Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. K. Kochsiek

Untersuchungen zur Kinetik folinpositiver Gruppen im Eiweißchymus während intragastraler Verdauung

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Ingrid Moll
aus Schweinsdorf

Würzburg, 17. Dezember 1980

1981

Aus der Medizinischen Klinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr.med. K. Kochsiek

Untersuchungen zur Kinetik folinpositiver Gruppen im Eiweißchymus während intragastraler Verdauung

INAUGURAL-DISSERTATION

verfaßt und der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
vorgelegt von

Ingrid Moll
aus Schweinsdorf

Würzburg, 17. Dezember 1980

Referent: Professor Dr.med. L. Maiwald

Korreferent: Professor Dr.med. K. Kochsiek

Dekan: Professor Dr.med. K.-H. Wulf

Tag der mündlichen Prüfung: 26. Februar 1981

UNIV. LEIDEN BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Würzburg

Meinen Eltern

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. ALLGEMEINER TEIL	2
1. Historischer Überblick	2
2. Magenschleim	3
2.1. Synthese und Bestandteile des Magenschleims	3
2.2. Funktionen des Magenschleims	4
3. Magensäure	4
3.1. Sekretion der Magensäure	4
3.2. Funktionen der Magensäure	6
4. Gastrale Enzyme	10
4.1. Isolierung	10
4.2. Nomenklatur	12
4.3. Biosynthese und Aktivierung	13
4.4. Biochemische Eigenschaften	14
4.4.1. Chemie	14
4.4.2. Wirkungseigenschaften	16
4.5. Physiologische Funktionen der gastralen Enzyme	18
4.5.1. Gastrale Proteolyse	18
4.5.2. Freisetzung von Oligopeptiden und freien Aminosäuren	19
5. Bedeutung der gastralen Proteolyse für den Verdauungsvorgang	21
5.1. Stimulierung der Magensaftsekretion	21
5.2. Stimulierung der Pankreas- und Darmsekretion	22
C. PROBLEMSTELLUNG	24
D. PROBANDENGUT, MATERIAL UND METHODEN	25
1. Probandenkollektiv	25
2. Apparatur	25
2.1. Kombinationssonde	25
2.2. Autoanalyser	25

Seite

3. Probetrunk 26
3.1. Albumin 26
3.2. Albumin-Pepsin-Lösung 27
4. pH-Messung 28
5. Messung der Proteolyseaktivität 29
5.1. Biuret-Methode 29
5.2. Folin-Ciocalteu-Methode 30
6. Versuchsdurchführung 31

E. ERGEBNISSE 32
1. Vorversuche 32
1.1. Vergleich von Albumin- mit AE 1-Lösung 32
1.2. Aufstellung von Eichkurven 34
1.3. Versuche zur Selbstverdauung von AE 1-Lösung 35
2. Kurvenverläufe 35
3. Auswertung 62
3.1. Verdaulichkeitsquotient Q 62
3.2. Vergleich der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration nach Albumin- und AE 1-Gabe 67
3.2.1. Mittelwerte 67
3.2.2. Flächenberechnung 75
4. Zusammenfassung der Ergebnisse 77

F. DISKUSSION 79
1. Bemerkungen zur Methode 79
2. Diskussion der Ergebnisse 81
3. Weiterführende Gesichtspunkte 84

G. ALLGEMEINE ZUSAMMENFASSUNG 86

H. LITERATURVERZEICHNIS 87

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543527_0013

A. EINLEITUNG

Die wichtigsten Aufgaben des menschlichen Magen-Darm-Traktes sind Nahrungsverdauung und Resorption. Diese Vorgänge scheinen in ihrer Physiologie erforscht zu sein: Kohlenhydrate werden von Amylasen des Speichelsekretes vorverdaut und im Darm durch Enzyme des Pankreas bis zu den resorbierbaren Monosacchariden weiter abgebaut. Lipasen, die ebenfalls dem Pankreas entstammen, spalten die Fette der Nahrung. Der dritte Nahrungsbestandteil, die Proteine, werden bereits im Magen von Pepsinen in Peptide zerkleinert und dann vom Trypsin des Pankreas im Darm in freie resorbierbare Aminosäuren überführt. Betrachtet man jedoch die einzelnen Vorgänge genauer, so fällt auf, daß wichtige Fragen oft noch gänzlich ungeklärt sind. So ist in der Proteinverdauung der tatsächliche Stellenwert der Pepsine, ja selbst ihre Zahl bis heute umstritten. Einerseits sollen sie eine dominierende Rolle besitzen, andererseits nahezu überflüssig sein. Im anschließenden allgemeinen Teil der Arbeit soll ein Überblick über neuere Darstellungen dieser Probleme der gastralen Proteinverdauung gegeben werden, bei der nicht nur die Pepsine, sondern auch die Salzsäure und der Magenschleim eine Rolle spielen.

B. ALLGEMEINER TEIL

1. Historischer Überblick

Die physiologische Funktion des Magen-Darm-Traktes höherer Organismen wurde erstmals am Anfang des 18. Jahrhunderts wissenschaftlich untersucht. Dabei wurden bis dahin geltende Spekulationen aus Altertum und Mittelalter abgelöst. Als mit die ältesten Versuche gelten die von Reaumur aus dem Jahr 1752. Er ließ Vögel winzige, mit Nahrung gefüllte durchlöcherte Behälter schlucken und stellte dabei fest, daß die Nahrung verdaut worden war. Einige Jahre später bereits gelang Spalanzani der Nachweis des Verdauungsvermögens des Magensaftes auch außerhalb des Körpers. 1823 identifizierte Prout die Magensäure als Salzsäure. Zur gleichen Zeit untersuchte Beaumont die Wirkung dieser Säure, indem er Fleisch mit Salzsäure in ähnlicher Konzentration wie im Magensaft vermischte. Die Salzsäure allein war nicht in der Lage, das Fleisch zu verdauen, im Gegensatz zu Magensaft. Damit erkannte Beaumont die Anwesenheit einer proteolytisch aktiven Komponente im Magensaft zusätzlich zur Salzsäure. Schwann identifizierte 1836 diese Komponente und nannte sie Pepsin. 1927 gelang Northrop die Kristallisierung des Pepsins. Den Nachweis einer zweiten Protease, des Kathepsins, erbrachten Buchs und Freudenberg 1940. Das Kathepsin wurde 1958 von Tang et al. rein dargestellt und kristallisiert. Tang führte für diese Protease den neuen Namen Gastricsin ein.

Nach diesem kurzen geschichtlichen Überblick sollen unsere heutigen Kenntnisse über Magensaft und gastrale Proteolyse zusammengefaßt werden.

2. Magenschleim

2.1. Synthese und Bestandteile des Magenschleims

Die Magenschleimhaut ist wie der gesamte Magen-Darm-Trakt von einer Schleimschicht bedeckt. Im Magen weist sie eine Dicke von 1,0 bis 1,5 mm auf. Diese Schleimsubstanzen werden von den Epithelzellen der Schleimhautoberfläche und den Pylorusdrüsen sezerniert. Die Synthese und Absonderung lassen sich autoradiographisch durch i.v.-Gabe von SO_4^*, das in den Magenschleim inkorporiert wird, verfolgen. Die stärkste Sekretion fand sich dabei am Grund der Foveolae gastricae. Stimulatoren sind vor allem lokale mechanische und chemische Reizung (NaCl, Alkohol, Essigsäure), Acetylcholin und Vagusreiz. Sehr starke Anregung ist verbunden mit einer Desquamation von Oberflächenzellen (Davenport, 1971). Keinen Effekt haben Nahrung, Gastrin und Histamin (Konturek, 1974; Davenport, 1971).

Der Schleim besteht aus Glykoproteinen, Proteinen und Mukopolysacchariden. Die Glykoproteine, die den Hauptteil bilden, besitzen einen Proteinkern. Dieser ist umgeben von multiplen Kohlenhydrat-Seitenketten, die aus verschiedenen Zuckern bestehen, welche als Sulfate, Amine, Glucuronide oder in acetylierter Form vorliegen. Diese Glykoproteine bilden eine komplexe dreidimensionale Struktur, die mit dem pH-Wert und der Ionenzusammensetzung des Magensaftes variiert, da elektrostatische Bindungen eine wichtige Rolle spielen (Konturek, 1974). Pepsin verdaut den Schleim nicht. Dank dieser besonderen Struktur verleihen die Glykoproteine dem Schleim seine Kohäsivität, Adhäsivität und Viskosität. Weitere Glykoproteine, die ins Magenlumen sezerniert werden, sind die strukturell ähnlichen Blutgruppensubstanzen A, B und H und der Intrinsic Factor. Die Mukopolysaccharide werden beim Menschen, im Gegensatz zum Hund, nur in geringem Ausmaß synthetisiert (Konturek, 1974).

2.2. Funktionen des Magenschleims

Eine Aufgabe des Magenschleims ist die Bereitstellung von Glucuronsäure für die Entgiftung von Toxinen (Bockus, 1949). Der Schutz der Magenschleimhaut vor Selbstverdauung ist jedoch die Hauptfunktion des Schleimes. Dabei spielen die neutralisierende Wirkung (100 ml Mukus neutralisieren 4 mval HCl) und die Pepsinbindung und -inaktivierung besonders durch Polysaccharide nur untergeordnete Rollen. Wesentlicher sind die Hemmung der Rückdiffusion von ins Lumen sezernierter Säure und die Trennung der Schleimhaut von den Proteasen des Magensaftes. Weiterhin hält der Schleim alkalisches Sekret (Speichel) an der Oberfläche fest (Davenport, 1971). Der Schleim spielt damit eine Rolle in der Pathogenese des Ulkusleidens.

3. Magensäure

3.1. Sekretion der Magensäure

Der klinisch und diagnostisch wichtigste Bestandteil des Magensaftes ist die Salzsäure, die von den Belegzellen gebildet wird. Diese Belegzellen oder Säurezellen sind beim Menschen besonders häufig im Halsteil der Fundusdrüsen zu finden. Ihre Zahl ist genetisch determiniert, sie kann jedoch im Laufe des Lebens durch entzündlich-degenerative und immunologische Prozesse reduziert werden (Maiwald, 1973). Eine Vermehrung kann nerval und humoral erfolgen, z.B. durch langdauernde Histamingabe im Tierexperiment oder pathologisch beim Zollinger-Ellison-Syndrom des Menschen (Ottenjahn, 1967). Anhaltspunkte für die Belegzellzahl gibt die Bestimmung der abgeschiedenen Säuremenge nach maximaler Stimulierung mit Histamin, Gastrin oder Betazol. Unter dieser Voraussetzung, wenn also alle Belegzellen angeregt sind, ist die in der Zeiteinheit gebildete Säuremenge proportional der Belegzellzahl; 50 Millionen Belegzellen bilden bei maximaler Stimulierung etwa 1 mval HCl pro Stunde (Ottenjahn, 1967). 1 Milliarde pro Person ist normal (Demling, 1970).

Das charakteristische Kennzeichen dieser Belegzellen sind intrazelluläre Sekretkanälchen, die die Fortsetzung der Zellmembran darstellen und von Mikrovilli umsäumt werden. Das Zytoplasma ist fein granuliert, reich an Mitochondrien und enthält ein ausgedehntes agranuläres endoplasmatisches Retikulum. Bereits die Sekretkanälchen enthalten die etwa 1/10 n HCl, was durch Zufügen eines Säureindikators zu beweisen ist (Davenport, 1971).

Diese starke Erhöhung der H^+-Konzentration von 0,00005 mval/l im Plasma auf 160 mval/l im Magensaft ist natürlich ein aktiver Prozeß. Die Energie dafür liefern der oxidative Stoffwechsel und die anaerobe Glykolyse der Belegzelle; benötigt werden dazu Glukose, Pyruvat, Fruktose, Acetoacetat und Sauerstoff. CO_2, das bei Stoffwechselvorgängen entsteht, wird von Belegzellen aufgenommen und mit Hilfe des Enzyms Carboanhydrase in H_2CO_3 überführt. Die Kohlensäure dissoziiert im vorliegenden Milieu in H^+ und HCO_3^-. Die H^+-Ionen werden aktiv in den Magensaft sezerniert, während HCO_3^- ins Plasma zurückgelangt. Bilanzmäßig betrachtet resultiert somit pro Mol sezernierte HCl eine Abgabe von 1 Mol HCO_3^- an das Plasma. Cl^--Ionen werden ebenfalls aktiv von den Belegzellen aufgenommen und in den Magensaft sezerniert. Die Konzentration von H^+ und Cl^- des Belegzellsaftes ist stets konstant 150 bis 170 mval/l, lediglich die Sekretionsgeschwindigkeit variiert (Ottenjahn, 1967; Davenport, 1971).

Somit sind die Sekretionsgeschwindigkeit und der Grad der Neutralisation oder Verdünnung durch Nicht-Belegzell-Sekret entscheidend für die resultierende Azidität des Magensaftes. Hyperazidität würde man demnach besser als Hypersekretion bezeichnen.

Festgestellt wird der Säuregehalt durch Titration bis zum Neutralpunkt mit n/10 NaOH oder elektrometrisch (Ottenjahn, 1967). Wie unzureichend die klinisch oft angewandte Methode der einmaligen Säurebestimmung ist, zeigen z.B. Versuche von Alvarez et al. (1936). Sie bestimmten die Säurekonzentration bei mehreren Versuchspersonen täglich drei Monate lang und stellten dabei fest, daß diese von Tag zu Tag Unterschiede bis zu 60 % aufweisen kann.

Wie experimentelle Analysen an Hunden zeigten, verläuft die Magensekretion in drei Phasen. Sie laufen nicht zeitlich nacheinander ab, sondern stellen verschiedene Auslösungsmechanismen der Magensaftsekretion dar.

In der ersten, der psychischen (vagalen oder nervösen) Phase werden die Haupt- und Belegzellen des Magenkorpus direkt durch den Nervus vagus aktiviert, der im Sinne eines bedingten Reflexes von psychischen und sensorischen Reizen gesteuert wird. Diese Phase kann nur bei intaktem Nervus vagus ablaufen.

Während der zweiten, der gastrischen Phase (Gastrinphase) erfolgt die Stimulierung des sezernierenden Parenchyms auf humoralem Wege mittels Gastrin. Dieses Hormon wird in den G-Zellen des Antrums gebildet. Seine Freisetzung aus der Antrumschleimhaut wird durch direkten Kontakt mit der Nahrung, insbesondere durch Eiweiße und deren Spaltprodukte stimuliert. Auch die Dehnung des Antrums führt über eine Vagusaktivierung zur Gastrinproduktion. Unterschreitet jedoch der pH-Wert des Mageninhaltes den Wert 2, dann wird die Gastrinsekretion gehemmt. Damit unterliegt also die gastrininduzierte HCl-Sekretion einem negativen Rückkopplungsmechanismus.

Die dritte Phase der Magensaftsekretion wird intestinale Phase genannt. Hierbei stimuliert Gastrin, das in der Duodenalschleimhaut und im Pankreas produziert wird, die Sekretion, wenn der pH-Wert des Duodenalinhaltes größer als 4 ist.

3.2. Funktionen der Magensäure

Die Salzsäure hat unterschiedliche Aufgaben, sie wirkt antiseptisch, denaturierend, stellt den pH-Wert des Magens ein und wirkt auf Galle und Pankreas anregend.

Die Salzsäure wirkt stark bakterizid. Sie hält bei normaziden Personen den Magen und das Duodenum steril, bei anaziden dagegen können im Duodenalsaft dieselben Mikroorganismen nachgewiesen werden wie im Mund-Nasen-Bereich (Bockus, 1949). Es werden damit viele pathogene Erreger, welche oral aufgenommen worden sind, abgetötet, aber auch aszendierende Keime aus Dünn- und Dickdarm. Die bei Säuremangel auftretende

Dysbakterie bewirkt verstärkte Gärungs- und Fäulnisprozesse, die zu beschleunigter Darmpassage und Enteritis mit reduzierter Protein- und Kohlenhydratverdauung und mangelhafter Nahrungsverwertung führen. Außerdem wird die Leber belastet durch die Entgiftung der bei der bakteriellen Nahrungsaufspaltung entstandenen nicht verwertbaren Amine und auch durch aszendierende Cholezystitiden und Cholangitiden (Maiwald, 1973).

Die zweite wichtige Funktion der Salzsäure ist die Denaturierung von Proteinen. Darunter versteht man eine Strukturveränderung, bei der die biologischen Eigenschaften verschwinden, die Löslichkeit reduziert wird und veränderte physikalische und chemische Eigenschaften auftreten. Bei der Denaturierung werden Nebenvalenzen, eventuell auch spezifische Peptidbindungen, die ein natives Protein in seiner globulären Konformation stabilisieren, gelöst. Die Proteinkette geht in die gestreckte Konformation über, was röntgenologisch verfolgt werden kann. Damit gelangen reaktive Bindungen und Gruppen, z.B. Tyrosinreste und SH-Gruppen, die vorher im Inneren des Moleküls verborgen waren, nach außen. Solche aufgefalteten Proteine werden von den Proteasen des Magen-Darm-Traktes schneller und leichter angegriffen als native Proteine (Christensen, 1955). Diese höheren Hydrolysegeschwindigkeiten denaturierter Proteine beobachtet man außerdem in einem breiten pH-Bereich, z.B. für denaturiertes Eieralbumin von pH 3 bis pH 0,5. Die nativen Proteine haben im Gegensatz dazu einen engen pH-Optimum-Bereich; bei wenig höheren oder tieferen H^+-Ionen-Konzentrationen nimmt die Umsatzgeschwindigkeit rasch ab (Christensen, 1955). Jedoch läuft die Denaturierung je nach Protein mit unterschiedlicher Geschwindigkeit ab: sehr schnell bei Hämoglobin und Edestin, langsam bei Eieralbumin und Serumalbumin. Christensen vermutet, daß dieser Vorgang zumindest bei einigen Proteinen die Hydrolysegeschwindigkeit determiniert. Die Hydrolyse ist dann proportional zur Denaturierung. Die Salzsäure legt somit durch das Entfalten der Peptidketten die für die Proteasen angreifbaren Bindungen frei.

Weiterhin erzeugt sie ein saures Milieu im Magen, das eine notwendige Voraussetzung für die Aktivierung der Magenproteasen ist. Bis pH 5 - 6 findet man eine je nach Substrat mehr

oder weniger starke proteolytische Aktivität des Magensaftes (Merten, 1951; Buchs, 1951; Christensen, 1955). Große Eiweißmoleküle werden nur in der stark sauren Zone aufgebrochen, kleine dagegen im gesamten sauren Bereich (pH 1 bis 6) (Buchs, 1974). Um aber eine nur schwach saure Reaktion des Magenchymus zu erhalten, wird bereits eine beträchtliche Menge Salzsäure benötigt, wie Merten (1951) fand. Er benötigte für die Ansäuerung von je 1000 g Großküchen-Nahrung auf pH 5,0 folgende Salzsäuremengen (cm^3 0,1 n HCl):

Brühe, Kartoffeln, Nudeln, Fleisch, Möhren:	248
Erbsensuppe, Nudeln, Sauce:	114
Kartoffelsuppe, Kartoffeln, Grünkohl, Pudding:	560
Gerstensuppe, Kartoffelpüree, Weißkraut:	136

Als Durchschnitt gibt er 100 bis 300 ml 0,1 n HCl pro 1000 g Nahrung an.

Diese großen Säuremengen sind bedingt durch die hohe Pufferkapazität der Nahrung, besonders der Proteine (Merten, 1951; Henning, Kinzelmeier und Kimbel, 1954). Die Pufferkapazität nimmt mit der kontinuierlichen Zersetzung der Proteine sogar noch zu infolge der Freilegung von weiteren NH_2- und COOH-Gruppen. Es muß daher laufend weiter Salzsäure abgesondert werden, um den neuentstandenen Puffer abzusättigen (Buchs, 1971).

Für bessere Proteasenwirkung sind noch weit größere Säuremengen nötig, da die pH-Optima in stärker sauren Bereichen liegen (Merten, 1951; Buchs, 1974; Piper und Fenton, 1965).

In welcher Weise die H^+-Ionen die Umsatzgeschwindigkeit der Nahrungsproteine beeinflussen, ist noch nicht völlig geklärt; sicherlich werden Proteasen und auch Substrate, wie bereits erläutert, verändert (Christensen, 1955).

Northrop (1922) bestimmte durch Titration die Konzentration von positiv geladenen Substratproteinen. Bei Vergleichen dieser Titrationskurven mit den Pepsin-Hydrolysekurven der gleichen Proteine bemerkte er eine positive Korrelation und schloß daraus, daß die positive Ladung der Proteinmoleküle für die Pepsinwirkung entscheidend ist.

Die Bedeutung von elektrostatischen Kräften und dissoziierten Molekülen für die Bildung des Enzym-Substrat-Komplexes ist heute anerkannt. Sie könnten die pH-Abhängigkeit determinieren. Den Aktivitätsrückgang des Pepsins im extrem sauren und alkalischen Milieu kann man als Denaturierung des Enzyms selbst deuten (Piper und Fenton, 1965).

Als letzte Funktion der Salzsäure sei kurz die Freisetzung von Sekretin und Cholezystokinin/Pankreozymin erwähnt. Sekretin ist ein Hormon, das die Wasser- und Bikarbonatsekretion des Pankreas stimuliert. Bei Cholezystokinin/Pankreozymin handelt es sich wahrscheinlich nur um eine einzige Substanz, die die Enzymsekretion des Pankreas steigert und eine Kontraktion der Gallenblase hervorruft. Durch Kontakt der Duodenalschleimhaut mit Salzsäure wird die Synthese dieser Hormone dort ausgelöst (Buchs, 1974).

Als Folge eines Magensäuremangels gelangen demnach ungenügend peptisch und tryptisch vorverdaute Proteine in den Dünndarm und führen dort zu Reizerscheinungen und beschleunigter Passage (Maiwald, 1973).

4. Gastrale Enzyme

4.1. Isolierung

Schon bald nach der Entdeckung des Pepsins wurde vermutet, es handle sich dabei nicht um eine Reinsubstanz, sondern um mehrere Proteasen (Buchs, 1970; Seijffers, Turner, Miller und Segal, 1965). Diese Annahme basierte auf dem Nachweis einer zweigipfeligen pH-Aktivitätskurve des isolierten Magensaftes für viele Substrate wie Edestin, Gelatine, Eieralbumin, Casein, Hämoglobin, Plasmaeiweiß und ungereinigte wie Muskel, Leber, Käse, Hafer, Bohnen (Buchs, 1949, bei Buchs, 1971). Man schrieb jedem Aktivitätsgipfel ein eigenes Enzym zu. Das erwies sich aber als nicht zutreffend, denn auch mit einem einzigen gereinigten Pepsin kann man eine zweigipfelige pH-Aktivitätskurve nachweisen (Seijffers, Turner, Miller und Segal, 1965). Trotzdem gelang es später mit Hilfe von Chromatographie an Amberlit-IRC-50-Säulen, aus menschlichem Magensaft zwei proteolytisch aktive Fraktionen zu isolieren und kristallin darzustellen. Sie wurden Pepsin und Gastricsin genannt (Tang, Wolf, Caputto und Trucco, 1959). Zugleich konnten dieselben Autoren auch zwei Pepsinogene trennen, die sie Zymogen I A und I B nannten. Jedes ergab bei Aktivierung sowohl Pepsin als auch Gastricsin (Tang und Wolf, 1968). Die von Tang darauf aufgebaute 1-Zymogen-2-Enzym-Theorie gilt jedoch heute als überholt, da sich seine Zymogene als heterogen erwiesen (Buchs, 1970).

Einige Jahre nach Tang trennten Seijffers et al. (1963) aus alkalischen Magenschleimhautextrakten durch chromatographische Auftrennung an Ecteolaharz (Triäthanolamin-Cellulose) gegen Chloridgradienten 2 proteolytisch aktive Spitzen. Bei Anwendung von DEAE-Cellulose (Diäthylaminoäthyl-Cellulose) fanden sie aber 3 Fraktionen (Seijffers et al., 1963 b). Diese 3 Fraktionen des alkalisch eluierten Magenschleimhautextraktes waren stabil bis pH = 9,2 , brachten Milch nicht zur Gerinnung und verdauten Eiweiß erst nach Ansäuerung. Es handelt sich damit um Pepsinogene, die Pg I, II und III genannt wurden. Die genannten Autoren legen (wie schon andere vor ihnen) auf

den Nachweis der 3 verschiedenen Pepsinogene mehr Wert als auf die fertigen Pepsine, da sich aus Pepsin durch Selbstverdauung proteolytisch aktive Bruchstücke abspalten und so mehr natürliche Proteine vortäuschen, als vorhanden sind (Ingram, 1951; Buchs, 1970). Nochmalige Chromatographie der isolierten, angesäuerten Pepsinogene ergab aus Pg I ein Pepsin I, aus Pg III ein Pepsin III. Dagegen bilden sich bei Ansäuerung aus Pg II zwei verschiedene Pepsine II A und II B. Die wahrscheinlichste Erklärung dafür ist, daß Pg II eine noch nicht getrennte Mischung zweier Pepsinogene ist (Seijffers et al., 1965). Wenn es aber vier verschiedene Pepsinogene im alkalischen Magenschleimhautextrakt gibt, aus denen vier verschiedene Pepsine entstehen, dann sollte auch der Magensaft vier aktive Pepsine aufweisen. Seijffers et al. (1963 a) fanden aber mit ihren chromatographischen Methoden nur drei. Sie nahmen deshalb an, daß zwei an sich verschiedene Pepsine, wie vorher auch die beiden Pepsinogene II A und II B, chromatographisch nicht trennbar sind. Dies wäre vereinbar mit dem festgestellten chromatographisch nahezu identischen Verhalten von Pepsin II B und III. Die drei aktiven Peaks sind demnach: Pepsin I; Pepsin II A; Pepsin II B + Pepsin III (Seijffers et al., 1965). Dies alles macht deutlich, daß die Identifizierung der Pepsinogene und Pepsine entscheidend von den verwendeten Methoden abhängt. Die Chromatographie ergab, wie erwähnt, maximal drei bis vier verschiedene Proteasen (Buchs, 1970). Die später angewandte Agargel-Elektrophorese erwies sich jedoch als überlegen. Sie zeigte bei Kushner, Rapp und Burtin fünf, mit der Variante von Samloff sieben bis acht, bei Whitecross et al. und Mangla et al. sogar bis zu elf verschiedene Banden mit proteolytischer Aktivität (bei Buchs, 1971; Samloff, 1969; bei Rapp und Lehmann, 1976).

Es ist demnach anzunehmen, daß in naher Zukunft verbesserte Methoden die Magenproteasen in noch mehr Enzyme aufzutrennen vermögen. Jedoch sollte man sich angesichts der vielen Enzyme (wie schon erläutert) fragen, ob ihnen tatsächlich ebenso viele autochthone Zymogene entsprechen, oder ob sie lediglich Degradationsprodukte weniger echter Pepsine sind (Turner et al., 1970). Rapp und Lehmann (1976) konnten mit Polyacrylamidgel-

Elektrophorese sicher acht verschiedene Pepsinogene finden. Man postuliert daher zur Zeit mindestens acht verschiedene Pepsinogene und Pepsine.

4.2. Nomenklatur

Es steht außer Zweifel, daß von verschiedenen Forschern dieselben Pepsine identifiziert, aber mit unterschiedlichen Namen belegt wurden. Leider gibt es bis heute noch keine verbindliche Nomenklatur für Pepsine. Deshalb soll hier ein von Buchs (1970) entworfenes Schema kurz dargestellt werden.

Bezeichnung der Pepsine des Schweins	Korrelate beim Menschen	Autoren
A	"Pepsin"	Herriott, Northrop
	Funduspepsin	Taylor
	P II oder P III	Seijffers, Miller, Segal
	P II	Kushner, Rapp, Burtin
	P I	Hanley, Boyer, Naughton
	P_{2-5}	Samloff
B	P IV	Kushner, Rapp, Burtin
C	Ma-Kathepsin	Freudenberg, Buchs
	Gastricsin	Tang
	Pyloruspepsin	Taylor
	P I	Seijffers, Miller, Segal
	P III	Kushner, Rapp, Burtin
	P II	Hanley, Boyer, Naughton
	$P_{6,7}$	Samloff
	Slow moving protease	Samloff

Die jeweils zusammengestellten Pepsine sind nach derzeitiger Meinung identisch oder zumindest sehr nahe verwandt (Buchs, 1970; Seijffers et al., 1965). Sämtliche aufgeführten Proteasen werden allgemein als "Pepsine" bezeichnet, die erste Gruppe (A) als "Pepsin" im eigentlichen Sinn, und die Gruppe C als "Gastricsin" oder "Kathepsin". Diese Nomenklatur wird auch in der vorliegenden Arbeit verwendet.

4.3. Biosynthese und Aktivierung

Die Magenproteasen, die ausschließlich Proteine sind, werden als inaktive Vorstufen, Zymogene oder Pepsinogene genannt, synthetisiert; diese wurden schon 1882 von Langley in Magenschleimhautextrakten identifiziert und 40 Jahre später von Herriott und Northrop kristallisiert (bei Tang und Wolf, 1968).

Die Aktivierung der Vorstufen beginnt unter dem Einfluß der Salzsäure bei einem pH-Wert unter 5 und geht autokatalytisch weiter, d.h. bereits gebildetes Pepsin katalysiert seine eigene Entstehung (Seijffers et al., 1965). Dabei wird das inaktive Pepsinogen (MG 42 500) proteolytisch gespalten in Pepsin (MG 35 000) und 5 bis 6 Peptide. Das Molekulargewicht der Spaltprodukte beträgt 6000 bis 7000. Man kennt bereits die Bindungen, die dabei gespalten werden (Seijffers et al., 1965; Magee, 1974; Konturek, 1974). Das größte der aus Pepsinogen A des Schweins abgespaltenen Peptide konnte kristallisiert und seine Aminosäuresequenz analysiert werden. Es besteht aus 41 Aminosäuren und verbindet sich zwischen pH 5 und 6 reversibel mit Pepsin zu einem inaktiven Komplex, weshalb es Pepsin-Inhibitor genannt wird (Herriott, 1941; Buchs, 1971; Seijffers et al., 1965). In diesem pH-Bereich ist die Reaktion zwischen Pepsin und Pepsin-Inhibitor noch reversibel und gehorcht dem Massenwirkungsgesetz; bei einem pH unter 4 ist sie irreversibel, da der Inhibitor-Komplex zerstört wird (Buchs, 1970). Die Pepsinogene sind demnach größere Moleküle als die Pepsine.

Die Synthese der Pepsinogene, so glaubte man lange Zeit, finde nur in den Hauptzellen des Fundus statt. Samloff und

Liebman (1973) konnten jedoch nicht nur dort, sondern auch in den Nebenzellen mit Hilfe ihrer Immunfluoreszenztechnik Pepsinogene nachweisen. Sie fanden in beiden Zellarten zwei immunologisch verschiedene Pepsinogengruppen I und II, die dort in gemeinsamen Granula gespeichert werden (Konturek, 1974). In nicht stimulierten Zellen häufen sich die Granula und hemmen ihre eigene Neusynthese im Sinne eines negativen Feed-back-Mechanismus. Während der Stimulierung lassen sich im Gegensatz dazu keine Granula nachweisen. Ihre Wiederherstellung benötigt 6 bis 18 Stunden (Konturek, 1974). Die genannten Autoren fanden auch außerhalb des Fundus in den Pylorusdrüsen und Brunnerschen Drüsen Pepsinogen der Gruppe II, jedoch keines der Gruppe I (Samloff und Liebman, 1973).

Es zeigt sich damit, daß wahrscheinlich mindestens vier verschiedene Zellarten Pepsinogene synthetisieren. Die bisher isolierten Pepsinogene gehören drei immunologisch unterschiedlichen Gruppen an, Gruppe I, Gruppe II und eine langsam wandernde Protease (slow moving protease) (Samloff, 1969; Rapp und Lehmann, 1976). Die Aktivierung von Gruppe I ergibt die Pepsine 2 bis 5 von Samloff, d.h. Pepsine im engeren Sinn, während aus der Pepsinogengruppe II und SMP die Pepsine 6 und 7, also Kathepsine, gebildet werden (Samloff, 1969; Rapp und Lehmann, 1976). Die Stimuli für die Pepsinogensynthese, die eventuell für die einzelnen Gruppen unterschiedlich sind, sollen später (4.5.) besprochen werden (Samloff und Liebman, 1973).

4.4. Biochemische Eigenschaften

4.4.1. Chemie

Die biochemischen Eigenschaften der Pepsine sollen durch Vergleich von Pepsin und Gastricsin (= Kathepsin) erläutert werden.

Es ist schon lange bekannt, daß das ungefähre Molekulargewicht der Pepsine zwischen 30 000 und 40 000 liegt (Buchs, 1971). Erst aus jüngster Zeit stammen genauere Molekular-

gewichtsangaben, für Gastricsin etwa 31 500, für Pepsin 34 100 (Tang und Wolf, 1969). Pepsin und Gastricsin sind reine Proteine und bestehen aus 337 bzw. 298 Aminosäuren, deren Sequenz seit einigen Jahren bekannt ist (Buchs, 1970). Dazu wurden die Proteasen einmal tryptisch und einmal chymotryptisch verdaut und die unterschiedlichen Hydrolyseprodukte mit der Methode von Sanger oder von Edman analysiert. Durch Vergleiche der beiden Analysenergebnisse konnte auf die Aminosäuresequenz geschlossen werden. Die Ergebnisse zeigten ein großes Maß an Übereinstimmung nicht nur der menschlichen Enzyme untereinander, sondern auch mit denen anderer Spezies. Bei beiden Enzymen ist zum Beispiel die Sequenz am C-terminalen Ende mit Gly - Leu - Ala - Pro - Val - Ala - COOH identisch (Buchs, 1970). Auch die Häufigkeit einzelner Aminosäuren ist gleich. Lysin kommt in beiden menschlichen Enzymen nicht vor, Histidin, Arginin und Methionin selten. Die bei allen Pepsinen vorhandenen 6 Cysteinmoleküle in entsprechender Position bilden stets 3 Disulfidbrücken aus und wickeln so das Molekül auf. Im Gegensatz dazu kommen Asparaginsäure, Serin, Valin und Isoleucin deutlich häufiger in Pepsin, Glutaminsäure dagegen häufiger in Gastricsin vor (Buchs, 1970).

Der Nachweis von nur je einem Radikal an den beiden Enden der Enzymmoleküle wird allgemein als Beweis für die Anordnung der Aminosäuren in einer einfachen Polypeptidkette gewertet (Buchs, 1970). Bei dem Gastricsin ist die Kette weniger verschlungen, es ist ein gestrecktes Molekül, während Pepsin mehr eine kugelige Konformation aufweist (Tang und Wolf, 1969).

Die große strukturelle Ähnlichkeit von Pepsin und Gastricsin beweist einerseits eindeutig deren enge Verwandtschaft; andererseits zeigen die Differenzen im Molekülbau, daß das kleinere Gastricsinmolekül nicht lediglich ein Abbauprodukt des größeren Pepsin sein kann (Buchs, 1970). Diese Ansicht wurde oft vertreten, da Perlman proteolytisch aktive Restpeptide bei der Pepsinautolyse nachwies (Perlman, 1954; bei Tang, Wolf, Caputto, Trucco, 1959).

4.4.2. Wirkungseigenschaften

Wie bereits erwähnt, unterscheiden sich Pepsin und Gastricsin in ihrem pH-Optimum, das für Gastricsin je nach Substrat bei pH = 3 bis 5 liegt, für Pepsin zwischen pH = 1 und 2 (Springer, 1950; Buchs und Freudenberg, 1959; Tang, Wolf, Caputto und Trucco, 1959).

Verschieden ist auch die Empfindlichkeit der beiden Enzyme gegen Alkalieinwirkung. Gastricsin wird bei pH 8 in Sekunden irreversibel inaktiviert, während die Zerstörung von Pepsin bei pH 8 zwar auch irreversibel, aber langsamer abläuft (Merten, 1951; Kageyama und Takahashi, 1976). Piper und Fenton (1965) haben eine pH-abhängige Stabilitätskurve für Pepsin aufgestellt. Dabei erwies sich Pepsin stabil von pH 1 bis 6; darüber wurde es allmählich vollständig inaktiviert. Gastricsin ist im sauren Milieu genauso stabil wie Pepsin; erst bei extrem hohen H^+-Konzentrationen (pH kleiner als 1) werden beide Enzyme denaturiert (Merten und Ratzer, 1949; Springer, 1950).

Die Temperaturresistenz der beiden Enzyme hängt von der H^+-Ionen-Konzentration ab. Im pH-Bereich von 3 bis 5 ist Pepsin gegen höhere Temperaturen resistenter als in stärker saurem Milieu und als Gastricsin. Bei pH 2 ist umgekehrt Gastricsin resistenter als bei pH 3 und als Pepsin. Bei 75 $^{\circ}$ C sind beide bei jeder H^+-Konzentration völlig inaktiviert. Verursacht wird dieses Verhalten wahrscheinlich durch Selbstverdauung der Enzyme in variablem Ausmaß (Tang et al., 1959; Tang und Wolf, 1968; Buchs, 1970). Bestimmt man für das pH-Optimum der beiden Enzyme (1,8 bzw. 3,3) die Temperatur, bei der sie am schnellsten verdauen, so ergibt sich für Pepsin 50 $^{\circ}$ C, für Gastricsin 63 $^{\circ}$ C. Die beiden Enzyme haben also verschiedene Temperaturoptima.

Menschliche Enzyme laben Milch in gleicher Stärke, aber schwächer als viele tierische Pepsine (Buchs, 1970; Tang und Wolf, 1968; Huang und Tang, 1969).

Die proteolytische Aktivität von Pepsin, gemessen nach der Methode von Anson und Mirsky mit Hämoglobin als Substrat, beträgt nur 80 % derjenigen des Gastricsin (Tang et al., 1959).

Eieralbumin dagegen wird von menschlichem Pepsin deutlich schneller verdaut als von Gastricsin (Buchs, 1970; Tang und Wolf, 1968). Ob eine Aktivierung oder Inaktivierung des Gastricsin allein oder beider Proteasen gleichzeitig durch die verschiedensten Substanzen möglich ist, ist noch umstritten (Buchs, 1970; Tang et al., 1959; Springer, 1950).

Die Wirkungsspezifität beider Enzyme ist breit und ähnlich. Die meisten Dipeptide werden von Pepsin und Gastricsin in gleichem Umfang gespalten; lediglich einige werden nur von einem der beiden Enzyme hydrolysiert, was man für enzymatische Bestimmungsmethoden nutzen kann. Pepsin hat eine deutlich höhere Affinität zu Carbobenzoxy-glutamyl-tyrosin und zu Carbobenzoxy-glycyl-phenylalanin. N-acetyl-L-phenylalanin-L-dijodotyrosin (APDT) wird ausschließlich von Pepsin hydrolysiert (Tang und Wolf, 1969; Buchs, 1970). Man kennt aber auch Dipeptide, die nur für Gastricsin angreifbar sind, z.B. Carbobenzoxy-L-tyrosyl-L-threonin, Carbobenzoxy-L-tyrosyl-L-alanin und Carbobenzoxy-L-tryptophan-L-alanin. Wenn der Tyrosylrest an zweiter Stelle steht, wie beim Carbobenzoxy-L-alanyl-L-tyrosin und seinen Analogen, dann kann weder Gastricsin noch Pepsin die Hydrolyse katalysieren (Huang und Tang, 1969).

Vergleichende Untersuchungen über die Spaltung von Proteinen liegen ebenfalls vor. Huang und Tang (1969) hydrolysierten Glucagon und Ribonuclease A aus Rinderpankreas. Die entstandenen Spaltstücke trennten sie chromatographisch auf und bestimmten deren Aminosäuresequenz. Durch Vergleich dieser Ergebnisse mit der bekannten Sequenz der Proteine schlossen sie auf die Angriffspunkte von Gastricsin und Pepsin. Diese Versuche zeigten, daß beide Proteasen im Inneren der Proteine vorwiegend dieselben Peptidbindungen spalten, denn die erhaltenen Bruchstücke waren zum größten Teil identisch. Beide Enzyme sind somit Endopeptidasen. Beim Glucagon wurden 4 Bindungen (Phe - Thr; Asp - Tyr; Phe - Val; Leu - - Met) von beiden Enzymen gespalten, 2 weitere Bindungen (Tyr - Ser; Tyr - Leu) lediglich von Gastricsin. Auch bei der Ribonuclease A werden die meisten Bindungen, nämlich 19, von beiden zugleich angegriffen; 2 Bindungen (Tyr - Ser; Tyr -

- Glu) werden nur von Gastricsin und 2 weitere (Val - Ala; Phe - Val) nur von Pepsin hydrolysiert. Diese Ergebnisse bestätigten die auch bei synthetischen Dipeptiden beobachtete Bevorzugung von Tyr - X - Bindungen durch Gastricsin und die große Übereinstimmung beider Enzymspezifitäten. Weiterhin ergaben sich Anhaltspunkte, daß beide Proteasen Bindungen bevorzugen, an denen Aminosäuren mit hydrophoben Resten (z.B. Aromaten) oder saure Aminosäuren (besonders Glutaminsäure) beteiligt sind (Huang und Tang, 1969; Buchs, 1974). Die Magenproteasen weisen somit weder ein spezifisches Substrat noch ein spezifisches Abbauprodukt, sondern eine Spezifität für bestimmte Peptidbindungen auf.

4.5. Physiologische Funktionen der gastralen Enzyme

4.5.1. Gastrale Proteolyse

Nach dem bisher Gesagten ist die Funktion der Pepsine sicherlich die proteolytische Spaltung von Proteinen im Magen. Diese Proteolyse kann aber nur zu einer geringgradigen Spaltung führen, da ihr im Organismus mindestens drei Faktoren im Wege stehen:

1. Mangel an H^+-Ionen;
2. Mangel an Zeit;
3. Mangel an spaltbaren Peptidbindungen.

Wie schon unter 2.1. erläutert, besitzt zwar reines Magensekret eine für optimale Pepsinwirkung ausreichende H^+-Ionen-Konzentration (pH 1 bis 2), die aber bei Nahrungszufuhr stark erniedrigt wird. Buchs gibt für die erste Stunde der Verdauung einen pH-Wert von 4 bis 6, für die zweite Stunde einen zwischen 4 und 2 im Magen an (Buchs, 1974). Auch Henning et al. (1954) finden bei ihren Versuchen nur in seltenen Fällen kurzzeitig einen pH-Wert von 2. Borgström et al. stellten fest, daß ein pH von 2 erst nach vierstündiger Verdauung erreicht werden kann, wenn der Magen nahezu entleert ist (Borgström et al., 1957). Die H^+-Ionen-Konzentration befindet sich somit zumindest anfänglich (1. bis 2. Stunde) in einem Bereich, in

dem die Pepsinaktivität sehr gering, die des Gastricsin allerdings nachweisbar ist. Erst danach entstehen auch für die Pepsinaktivität bessere Bedingungen (Henning et al., 1954). Zusätzlich wird die gastrale Proteolyse durch die Magenentleerung eingeschränkt. Hinder et al. (1976) glauben, für die Magenentleerung einen linearen Verlauf nachgewiesen zu haben, während Hunt und Spurrell (1951) für wäßrige Nahrung eine exponentielle Kurve fanden. Nach letzteren Autoren soll ein gleichbleibender Prozentsatz (1 bis 3 % pro Minute) des Mageninhalts in der Zeiteinheit ins Duodenum gelangen. Griffith et al. (1966) bestätigten diese exponentielle Gesetzmäßigkeit für feste Speisen durch szintigraphische Verfolgung der Magenentleerung nach ^{51}Cr-markierten Frühstücken. Gleichgültig, welches Gesetz sich als richtig erweisen wird, in jedem Falle wird durch die Entleerung des Magens ein beachtlicher Nahrungsanteil der Proteolyse entzogen. Bei exponentiellem Verlauf sind es in der 1. Stunde nach dem Essen 50 % des Mageninhaltes (Buchs, 1973).

Aus der schon erwähnten bindungsspezifischen Hydrolyse der Pepsine (4.4.1.) folgt ohne weiteres, daß Pepsine nicht jedes Eiweiß zu beliebig kleinen Spaltstücken hydrolysieren können. Buchs gibt für den Anteil dieser pepsinadäquaten Bindungen 10 bis 30 % der Gesamtpeptidbindungen an (Buchs, 1973). Somit können Pepsine sogar bei optimalen Bedingungen höchstens 10 bis 30 % der Eiweißbindungen spalten, da die restlichen 70 bis 90 % natürlicherweise pepsinresistent sind. Berücksichtigt man dazu noch die niedrige H^+-Ionen-Konzentration und die Magenentleerung, so können letztlich nach Buchs (1973) 7 bis 22 %, nach Goldberg (1976) nur 10 bis 15 % der Nahrungsproteine peptisch zerkleinert werden. Dies stimmt mit Borgström et al. (1957) überein, die eine gastrale Spaltungsrate von etwa 10 % der Peptidbindungen fanden.

4.5.2. Freisetzung von Oligopeptiden und freien Aminosäuren

Die geringe Wirkungsmöglichkeit der Pepsine im Magen legt die Frage nahe, ob der Eiweißabbau im Magen tatsächlich ihre

Hauptaufgabe darstellt.

Bereits früher (4.4.2.) wurde erläutert, daß Pepsine auch synthetische Dipeptide zu freien Aminosäuren hydrolysieren. Ebenso können freie Aminosäuren bei der peptischen Spaltung verschiedener Proteine entstehen. Northrop (1930) und später Ingram (1951) beobachteten bei der Autolyse von Pepsinen die Freisetzung einer beträchtlichen Menge nadelförmiger Kristalle, die als Tyrosin identifiziert wurden. Das mit der Methode von Ingram erhaltene Tyrosin betrug 40 % des überhaupt im Pepsin vorhandenen Tyrosins; die Methode setzt ein pH von 4 voraus. Diese relativ niedrige H^+-Ionen-Konzentration scheint die Freisetzung von Aminosäuren und Oligopeptiden besonders zu begünstigen, denn andere Forscher erhielten auch bei Spaltung anderer Proteine unter ähnlichen H^+-Ionen-Konzentrationen dieselben Ergebnisse. So konnte Merten (1950) mit Hämoglobin als Substrat eine Parallelität der Eiweißgesamtspaltung und der Tyrosinfreisetzung finden. Bramstedt (1949) beobachtete bei pH 4,2 nicht nur eine Tyrosin-, sondern auch eine Tryptophan- und Histidinfreisetzung aus Casein bereits wenige Minuten nach Verabreichung von Magermilch. Freies Lysin wurde von Felix (1925) bei der peptischen Histonspaltung isoliert.

Maiwald (1973) führte ähnliche Versuche in größerem Rahmen durch und bestätigte obige Resultate. Er fand schon in den ersten Minuten der Verdauung kleine tyrosin- und tryptophanhaltige Peptide, obwohl die H^+-Ionen-Konzentration noch gering war (pH 5). Die peptische Spaltung von Beta-Laktoglobulin und Eialbumin führte nach Untersuchungen mehrerer Forscher vorwiegend zu Oligopeptiden (nach Maiwald, 1973). Damit muß die frühere Auffassung, daß Pepsine nur im stark sauren Milieu polymere Eiweiße lediglich bis zu Polypeptiden abbauen, durch den Zusatz ergänzt werden, daß sie auch, besonders bei niedriger H^+-Ionen-Konzentration, bis zu Oligopeptiden und freien Aminosäuren spalten. Der Grund dafür ist noch unbekannt.

5. Bedeutung der gastralen Proteolyse für den Verdauungsvorgang

5.1. Stimulierung der Magensaftsekretion

Pepsine spalten demnach zu Beginn der Verdauung bei niedriger H^+-Ionen-Konzentration vermehrt Oligopeptide und Aminosäuren ab; in der zweiten Stunde der Verdauung bauen sie in einem stärker sauren Milieu das Resteiweiß zu Polypeptiden ab.

Daraus ergibt sich die Frage, ob die Aminosäuren nach ihrer Resorption im Darm lediglich für den Aufbau körpereigener Proteine dienen, oder ob sie noch andere Funktionen haben. Die pharmakologische Wirksamkeit von Aminosäuregemischen ist bereits lange bekannt. Ivy und Javois (1925) stellten bei Versuchen mit Magenblindsackhunden fest, daß perorale Gabe von reinen Aminosäuregemischen die Magensaftsekretion steigert. Hingegen bewirkte die subkutane Verabreichung derselben Aminosäuren keine gesteigerte Magensaftproduktion. Bickel (1929) bestätigte diese Beobachtung für viele Aminosäuren, z.B. ß-Alanin, Tryptophan, Phenylalanin. Seine Versuche mit sauren Hydrolysaten von Fleisch und Casein ergaben eine noch deutlich stärkere Sekretionssteigerung als bei reinen Aminosäuren.

Mit Aminosäuregemischen, die sie durch enzymatische Hydrolyse von Gelatine erhalten hatten, führten Heider und Rausch (1968) Untersuchungen an Probanden durch. Sie beobachteten dabei nach intragastraler Gabe dieser Hydrolysate eine signifikante Zunahme des Magensaftvolumens, der Salzsäure und der Enzyme. Melzer et al. (1971) fanden bei ähnlichen Versuchen eine Zunahme der Enzymsekretion nur bei Gabe gewisser Aminosäuren, wie Lysin und ß-Alanin, hingegen keinen Effekt bei Glutaminsäure und Gelatinehydrolysat. Die säurelockende Wirkung der geprüften Aminosäuren unterschied sich bei den Versuchen dieser Autoren nicht signifikant von einer Placebowirkung (Milchzucker).

Cooke und Mitarbeitern gelang durch Perfusion von enervierten und transplantierten Pylorusblindsäcken bei Hunden mit Glycinlösung der Nachweis einer Proportionalität zwischen angewandter Glycinkonzentration und gemessener HCl-Konzentration

im Magen (nach Buchs, 1974; Grossman, 1968). Andersson und Elvin (1971) bestätigten dieses Ergebnis. Die Stimulierung ist demnach am intakten Magen und am enervierten Transplantat möglich. Das wirksame Prinzip sollte deshalb ein Stoff sein, der vom Blut transportiert wird. Tatsächlich konnten Cooke und Turtle (1970) nach Magenperfusion mit Glycin bei allen Probanden einen deutlichen Gastrinanstieg im Blut feststellen.

Gastrin, ein im Antrum des Magens synthetisiertes Protein, ist schon lange als sekretions- und motilitätsfördernde Substanz bekannt (gastrale Phase der Magensekretion). Dieses Hormon wird somit unter dem Einfluß von peptisch entstandenen Hydrolyseprodukten gebildet. Sein aktives Zentrum besteht lediglich aus den vier Aminosäuren (Phe - Asp - Met - Trp) des C-terminalen Endes. Es ist deshalb als zusätzlicher Mechanismus denkbar, daß bei der peptischen Hydrolyse Oligopeptide von ähnlicher Struktur entstehen, die selbst hormonartig wirken (Buchs, 1974). Unterstützt wird diese Theorie durch die Isolierung von verschiedenen "natürlichen" Gastrinen.

Durch ihre anfänglich entstandenen Hydrolyseprodukte, Aminosäuren und Oligopeptide, bringen Pepsine also die Gastrin- und damit die Magensekretion erst richtig in Gang. Dies scheint ihre Hauptfunktion zu sein.

5.2. Stimulierung der Pankreas- und Darmsekretion

Der Magen beginnt sich bereits kurz nach der Nahrungsaufnahme zu entleeren. Damit gelangen die abgespaltenen Aminosäuren und Oligopeptide schon frühzeitig ins Duodenum und können hier weitere Aufgaben erfüllen.

Wang und Grossman (1951) wiesen die Freisetzung von Pankreozymin/Cholecystokinin durch gewisse Aminosäuren im Darm nach (nach Buchs, 1974). Dieses Hormon wird von der Duodenalschleimhaut synthetisiert. Es regt im Pankreas die Sekretion von Lipase, Amylase und Trypsin an. Das letztgenannte gilt heute als das Hauptferment der Eiweißverdauung. Pankreozymin ist wahrscheinlich identisch mit dem Hormon Cholecysto-

kinin, das ebenfalls von der Duodenalschleimhaut synthetisiert wird und die Kontraktion der Gallenblase hervorruft. Eventuell wird auch Sekretin, ebenfalls ein pankreasstimulierendes Darmhormon, in geringem Umfang durch den Einfluß von Aminosäuren und Oligopeptiden freigesetzt. Jedoch spielt, wie schon erwähnt (3.2.), bei der Freisetzung dieses Hormons sicher die Magensäure eine viel wichtigere Rolle (Buchs, 1974).

Man glaubte lange Zeit, für die Stimulierung der Pankreozymin/Cholecystokinin-Freisetzung seien die bei der tryptischen Eiweißspaltung am Ende des Verdauungsprozesses entstehenden Aminosäuren verantwortlich (Buchs, 1974). Es ist aber viel einleuchtender, wenn, wie jetzt nachgewiesen, Pankreozymin durch die im Magen zu Beginn der Verdauung entstandenen Aminosäuren provoziert wird und damit die tryptische Verdauung überhaupt in Gang gebracht wird. Zugleich erhielte damit die sehr frühzeitig einsetzende Magenentleerung einen Sinn.

Abschließend kann gesagt werden: Die Hauptfunktion der Pepsine im Organismus ist die Bildung von Aminosäuren und Oligopeptiden im schwach sauren Milieu zu Verdauungsbeginn, die die Darmhormone provozieren und damit die gesamte Eiweiß-, Fett- und Kohlenhydrat-Verdauung in Gang setzen. Eine Nebenfunktion ist die Hydrolyse von Eiweißen zu Polypeptiden gegen Ende der Verdauung im Magen.

C. P R O B L E M S T E L L U N G

In der vorliegenden Arbeit wird die Verdauung eines Albuminprobetrunkes anhand einer kontinuierlichen Analyse des Chymus verfolgt. Es soll untersucht werden, ob die Zugabe von Pepsin zum Probetrunk die Proteolysespaltprodukte während der ersten Stunde nach Verabreichung qualitativ und quantitativ verändert und somit den Verdauungsvorgang beeinflußt.

D. PROBANDEN, MATERIAL UND METHODEN

1. Probandenkollektiv

Getestet wurden 36 freiwillige Probanden im Alter zwischen 20 und 30 Jahren, 18 davon weiblich. Einer Probandin war eine Überproduktion von Magensäure bekannt; bei den übrigen 35 waren bis dahin keine pathologischen Veränderungen im Magen-Darm-Trakt aufgetreten. Alle Probanden fühlten sich zur Zeit gesund und gaben an, seit mindestens einer Woche keine Pharmaka eingenommen zu haben. Von allen wurde bestätigt, in den letzten 12 Stunden vor Versuchsbeginn nicht gegessen oder geraucht zu haben.

2. Apparatur

2.1. Kombinationssonde

Der Proband erhält eine doppelläufige Sonde zu schlucken. Diese schließt man danach an das Schlauchsystem des Autoanalysers an. Durch den einen Schenkel wird von der Pumpe des Autoanalysers kontinuierlich Chymus aus dem Magen angesaugt. Am Ansaugschenkel befinden sich die Entnahmestellen für die Folin- bzw. Biuretstraße. Der andere Schenkel befördert den größten Teil des Chymus wieder in den Magen zurück. In diesen Schenkel wird der Probetrunk eingespritzt. Die Umlaufzeit beträgt 1 bis 3 Minuten (Schema bei Maiwald, 1973). Den Kopf der Kombinationssonde bildet eine Heidelberger Kapsel (siehe 4.).

2.2. Autoanalyser

Der Autoanalyser besteht aus der bereits erwähnten Präzisionspumpe, die gleichzeitig Chymus, Reagenzien und Luft in

getrennten Schläuchen ansaugt, und aus der Folin- und Biuretstraße. Das sind zwei Schlauch- und Spiralensysteme von unterschiedlicher Länge, in denen die Vermischung von Chymus mit Folin- bzw. Biuret-Reagenz und damit die chemische Bestimmungsreaktion stattfindet. Die angesaugte Luft dient der Probentrennung. Am Ende der Folin- und Biuretstraße befindet sich je ein Photometer. Diese messen die Extinktionen der einzelnen Proben. Die Folinstraße wird in 20 bis 25 min einmal durchflossen, die Biuretstraße in 8 bis 12 min. Die unterschiedlichen Verzögerungszeiten gewährleisten einen quantitativen Ablauf der Folin- bzw. Biuretreaktion (siehe 5.). Die Photometer geben die gemessenen Extinktionen an zwei Schreiber weiter, die Extinktionskurven aufzeichnen und diese zugleich mit Hilfe eines eingebauten Integrators integrieren. Mittels Eichkurven werden aus den Extinktionswerten die Konzentrationen errechnet.

Durch Vergleich der Durchmesser der Schläuche, die Chymus in die Folinstraße (ϕ = 0,5 mm) bzw. in die Biuretstraße (ϕ = 0,75 mm) leiten, mit dem Durchmesser des Schlauches, der sich im Chymuskreislauf befindet (ϕ = 4 mm), wird deutlich, daß die zur Bestimmung entnommene Chymusmenge verschwindend gering ist im Vergleich zur zurückfließenden. Durch die Untersuchung wird der Mageninhalt also nicht verändert.
Eine schematische Darstellung des Autoanalysers findet sich bei Berg (1971) und Fend (1973).

3. Probetrunk

Es wurden zwei verschiedene Eiweißlösungen gegeben, reines Albumin (A) und Albumin mit Pepsinzusatz (AE 1).

3.1. Albumin

Das Albumin stammte von der Firma Töpfer GmbH, Dietmannsried, und wurde laut Angaben dieser Firma mittels schonender Zerstäubung aus Kuhmilch gewonnen. Es ist demnach Lactalbumin. Die Firma Töpfer gibt folgende Aminosäurezusammensetzung an:

Tabelle 1

Aminosäurespektrum von Eiweiß im Lactalbumin
(nur 12 Aminosäuren angegeben)

100 g Eiweiß enthalten:

5,73 g Isoleucin
8,17 g Leucin
5,00 g Valin
1,46 g Methionin
1,95 g Cystin
2,56 g Phenylalanin
0,98 g Tyrosin
5,37 g Threonin
1,10 g Tryptophan
6,10 g Lysin
1,22 g Histidin
1,83 g Arginin

Für jeden Versuch wurden 1,95 g Albumin in 100 ml Aqua dest. aufgelöst und im Wasserbad auf 37 $^{\circ}$ C erhitzt. Dieser Probetrunk wird in der Versuchsbeschreibung immer mit A abgekürzt. Der pH-Wert dieser Lösung betrug 7,06 (gemessen mit dem pH-Meter der Firma Wissenschaftlich-Technische Werkstätte, Weilheim).

3.2. Albumin-Pepsin-Lösung

Dieser Probetrunk enthält dasselbe Lactalbumin wie der Probetrunk A, lediglich sind ihm noch einige andere Substanzen, vor allem Pepsin, zugefügt. Die Firma Töpfer GmbH, die ihn ebenfalls herstellt, gibt folgende Analyse an:

Tabelle 2

100 g AE 1 enthalten:

65,00 g Albumin
22,60 g Lactose
4,00 g Salze
2,50 g Fett
0,20 g Ascorbinsäure
1,68 g Zitronensäure
95,6 mg Pepsin

Beim Pepsinzusatz handelt es sich um das Präparat Citropepsin; 1 g entspricht 10 000 E. Sein Reinheitsgrad entspricht DAB 7 (Angaben des Herstellers).

Von diesem Präparat wurden für jeden Versuch 3 g in 100 ml Aqua dest. aufgelöst, um dieselbe Albuminkonzentration wie bei der reinen Albuminlösung (A) zu erhalten. Dieser Probetrunk wird AE 1 genannt. Die Lösung wies einen pH-Wert von 5,32 auf. Auch sie wurde einige Minuten vor Verabreichung auf 37 ^{o} C erwärmt.

4. pH-Messung

Die Bestimmung der H^{+}-Ionen-Konzentration erfolgte intragastral mit einer Endoradiosonde (Heidelberger Kapsel), die den Kopf der Kombinationssonde bildet. Die in ihr enthaltenen Antimonelektroden messen den pH-Wert auf potentiometrischem Wege. Daneben befinden sich in der Kapsel, die die Größe eines Dragees hat, ein Meßwertfühler und ein winziger Transistorenradiosender (Nöller, 1960). Die vom Sender abgesandten, den Meßwerten entsprechenden Funksignale werden von einem Empfänger in der Umgebung des Probanden aufgefangen. Es handelt sich also um eine drahtlose Übertragung der Meßwerte nach außen, wo sie kontinuierlich graphisch registriert werden. Jede Kapsel wird kurz vor ihrer Anwendung geeicht mit 2 Pufferlösungen der

Firma Merck:

1. pH = 1
   Puffer-Titrisol (Merck), DBP Nr. 971376 (Glycoll-Salzsäure), Genauigkeit: ± 0,02 pH

2. pH = 7
   Puffer-Titrisol (Merck), DBP Nr. 971376 (Phosphat), Genauigkeit: ± 0,02 pH

Die Geräte werden von der Firma Telefunken (Ulm), die Heidelberger Kapseln von der Firma C.H.F.Müller GmbH (Hamburg) geliefert.

5. Messung der Proteolyse-Aktivität

5.1. Biuret-Methode

Die Bestimmung des Gesamteiweiß im Autoanalyser (2.2.) erfolgte mit der Biuret-Methode. Sie ist anderen Verfahren überlegen, weil keine speziellen Einrichtungen nötig sind, nur ein stabiles Reagenz benötigt wird, die Spezifität hoch und der Arbeitsaufwand gering ist. Ihr Prinzip besteht in einer Komplexbildung der N-Atome, die in Peptidbindungen enthalten sind, mit Cu-II-Ionen. Voraussetzungen für diese Komplexbildung sind das Vorliegen von mindestens 2 Peptidbindungen pro Substratmolekül und ein alkalisches Medium. Die Intensität der violetten Farbe des gebildeten Komplexes kann photometrisch bestimmt werden. Das Extinktionsmaximum, mit dessen Wellenlänge die Messungen normalerweise durchgeführt werden, liegt bei 546 nm. Verschiedene Proteine und Peptide unterscheiden sich kaum durch ihre Maxima und Extinktionskoeffizienten. Die Farbintensität ist der Zahl der vorhandenen Peptidbindungen in einem weiten Meßbereich direkt proportional, das Lambert-Beersche Gesetz damit erfüllt. Die Methode ist weitgehend spezifisch für Peptidbindungen.

Reagenzien:

Stamm-Lösung:
45 g K-Na-Tartrat
15 g $CuSO_4$
5 g KJ
mit 0,2 n NaOH auf 1000 ml auffüllen.

Verdünnungs-Lösung:
5 g KJ
mit 0,2 n NaOH auf 1000 ml auffüllen.

Das Biuret-Reagenz, das erst unmittelbar vor Versuchsbeginn hergestellt werden darf, besteht aus 200 ml Stamm-Lösung und 800 ml Verdünnungs-Lösung.

5.2. Folin-Ciocalteu-Methode

Diese Methode in der Modifizierung nach Lowry (1951) ist zur Zeit die empfindlichste Eiweißbestimmungsmethode. Dies beruht auf zwei gleichzeitig ablaufenden Farbreaktionen. Einerseits findet im alkalischen Medium die oben (5.1.) besprochene Biuret-Reaktion statt, andererseits die Reduktion der Phosphor-Molybdänsäure und der Phosphor-Wolframsäure durch die im Protein vorkommenden Aminosäuren Tryptophan und Tyrosin. Man kann diese Methode somit auch als Bestimmungsmethode für den Tyrosin- und Tryptophangehalt der vorliegenden Proteine betrachten. Die Farbintensität wird photometrisch bei der Wellenlänge 492 nm bestimmt. Sie ist für die einzelnen Proteine unterschiedlich. Auch freie Aminosäuren werden erfaßt, jedoch ist ihre Farbreaktion deutlich geringer als die der Proteine (Lowry, 1951). Die Methode ist zehnmal empfindlicher als die Messung des Proteingehaltes im UV-Licht und hundertmal empfindlicher als die Biuret-Methode. Linearität für die Relation Farbintensität und Proteinkonzentration gilt nur für einen beschränkten Meßbereich, ebenso wie das Lambert-Beersche Gesetz.

Reagenzien:

Folin-Ciocalteus Phenolreagenz (Fa. Merck)
2 %ige Na-Carbonat-Lösung (0,189 M)
1 %ige Cu-Sulfat-Lösung (0,04 M)
2 %ige K-Na-Tartrat-Lösung (0,71 M)

Bei Gebrauch werden 5 ml der Cu-Sulfat-Lösung und 5 ml der K-Na-Tartrat-Lösung mit 490 ml Na-Carbonat-Lösung vermischt. 50 ml des käuflichen Folin-Reagenz werden mit 200 ml Aqua dest. verdünnt und beide Mischungen getrennt in den Autoanalyser gegeben.

6. Versuchsdurchführung

Prinzipiell werden immer pH-Wert und Protein nach Folin und Biuret gleichzeitig in vivo bestimmt. Zu Versuchsbeginn wird das Nüchternsekret etwa 10 min lang analysiert. Dann werden 100 ml der Albuminlösung (A) durch die Sonde in den Magen gebracht und die Untersuchung fortgeführt. Nach 45 bis 60 min ist dieser Teil des Versuchs beendet. Der Chymusrest, der sich dann noch im Magen befindet, wird soweit möglich mit einer Spritze abgesaugt und verworfen. Es folgt eine Pause von 15 min.

Der zweite Teil des Versuches beginnt wieder mit einer 10-minütigen Registrierung der Ausgangswerte. Anschließend werden 100 ml der Albumin-Pepsin-Lösung (AE 1) verabreicht und wieder 45 bis 60 min lang analysiert. Danach ist der Versuch beendet.

In dieser Weise wurden 23 Versuche ausgeführt. Bei den übrigen 13 Versuchen wurde die Reihenfolge der Probetrunkgaben umgestellt: im ersten Teil wurde AE 1 verabreicht, im zweiten Teil A.

Von den 36 durchgeführten Versuchen können nur 24 ausgewertet werden. Einige Probanden erbrachen während des Versuches; bei anderen konnte kaum Magensaft angesaugt werden oder dieser war mit Blut vermengt. Manchmal verstopften Schleim und Eiweißkoagel die Sonde.

E. E R G E B N I S S E

1. Vorversuche

1.1. Vergleich von Albumin- mit AE 1-Lösung

Vor Beginn der eigentlichen Versuche sollte geklärt werden, ob der Albumin-Probetrunk und der AE 1-Probetrunk, der ja neben dem Albumin noch eine Reihe weiterer Substanzen enthält, bei beiden Proteinbestimmungsmethoden gleiche Extinktionswerte ergeben. Anderenfalls wären Unterschiede zwischen den beiden Versuchsteilen nicht ohne weiteres zu interpretieren.

Zu diesem Zweck wurden die beiden Probetrunke, die in bezug auf Albumin gleiche Konzentration haben, direkt in den Autoanalyser eingegeben und die Extinktionen bei Folin- und Biuret-Reaktion bestimmt.

Es ergaben sich nahezu identische Extinktionskurven (Abb. 1).

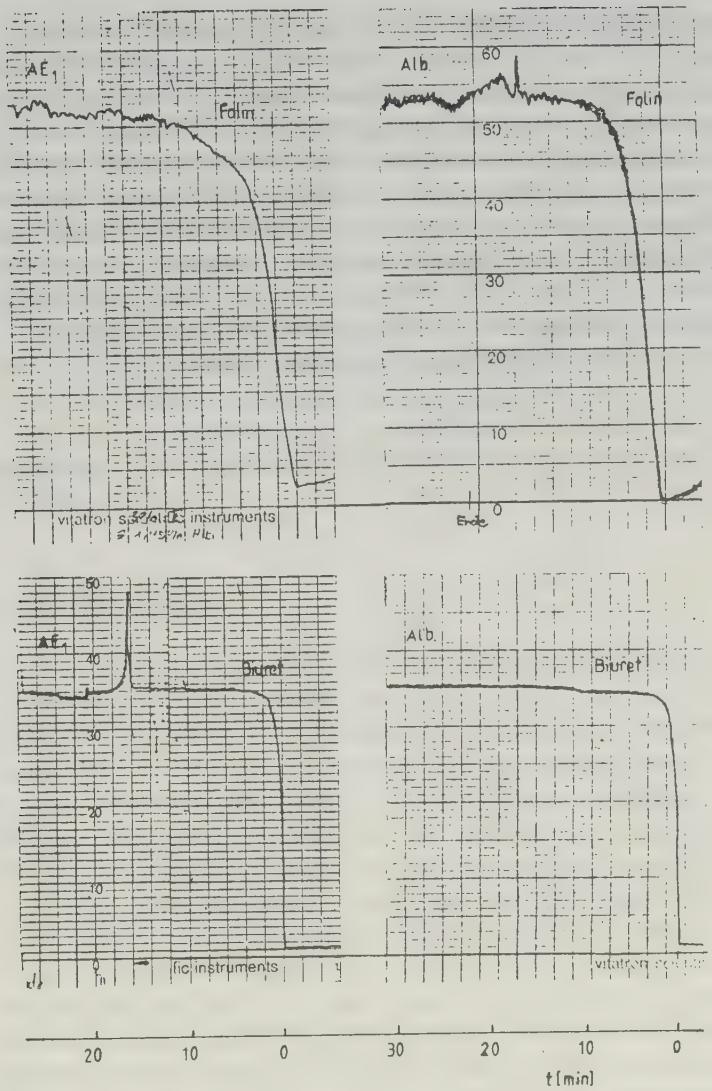


Abb. 1. Vergleich des Extinktionsverlaufes einer Albumin- bzw. AE 1-Lösung mit der Folin- bzw. Biuret-Methode. Abszisse: Zeit; Ordinate: Extinktion

1.2. Aufstellung von Eichkurven

Es wurden Albuminlösungen mit den Albuminkonzentrationen 4 ; 2 ; 1,95 ; 1,30 ; 1 ; 0,65 ; 0,50 ; 0,25 % hergestellt und analysiert. Dabei muß jede Lösung etwa 30 min lang durch den Autoanalyser fließen, da es so lange dauert, bis die Folinkurven konstante Werte erreicht haben. Daraus wurden Eichkurven für Folin und Biuret erstellt (Abb. 2). Um zu sichern, daß für Albumin und AE 1 wirklich dieselben Eichkurven gelten, wurde auch mit AE 1 eine Verdünnungsreihe hergestellt. Das Ergebnis bestätigte identische Extinktionen für Albumin und AE 1 bei gleichen Konzentrationen. Somit können bei den folgenden Versuchen immer Konzentrationen angegeben werden.

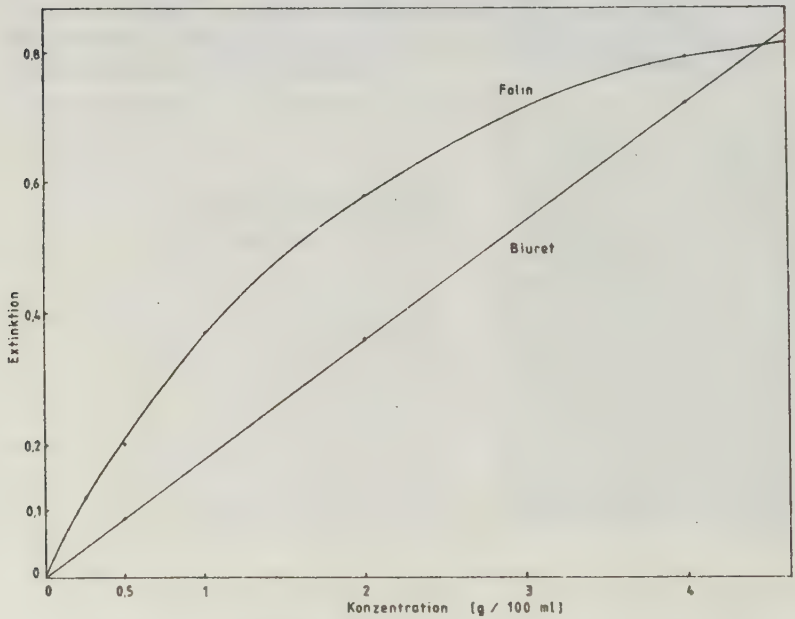


Abb. 2. Eichkurven für die Biuret- und Folin-Methode. Abszisse: g Albumin/100 ml; Ordinate: Extinktion

1.3. Versuche zur Selbstverdauung von AE 1-Lösung

Wegen des Pepsingehaltes ist bei längerem Stehenlassen eine Selbstverdauung von AE 1 denkbar; daher sollte festgestellt werden, ob sich die Extinktionen stark angesäuerter, längere Zeit aufbewahrter AE 1-Lösungen verändern. Hierfür wurden zwei AE 1-Probetrunke mit 1 n HCl versetzt, bis ein pH-Wert von 2 erreicht war. Der eine wurde 45 min bei Zimmertemperatur, der andere 70 min bei 37 ^{o} C im Wasserbad stehengelassen. Eine dritte Lösung wurde auf pH 1,5 titriert und 120 min bei 37 ^{o} C gehalten.

Beim Passieren der Folin- und Biuretstraße zeigten alle drei Lösungen jedoch denselben Extinktionsverlauf wie die nicht behandelten Lösungen (siehe Abb. 1).

Man kann mit dieser Analysen-Methode demnach keine Selbstverdauung der stark angesäuerten, erwärmten AE 1-Lösung feststellen.

2. Kurvenverläufe

Wie im Abschnitt "Methoden" (D 5.) erläutert, wurden bei jedem Versuch gleichzeitig zwei Kurven aufgezeichnet, die die Extinktionen aus der Folin- und Biuretstraße darstellen. Jede dieser Kurven besteht entsprechend dem Versuchsablauf aus zwei Teilen. Der erste Teil wird (bei der ersten Versuchsreihe) während der Albumin-Verdauung, der zweite Teil während der AE 1-Verdauung registriert. Am Beginn jedes Kurventeils zeigt sich zuerst ein Anstieg von der Nullinie auf ein niedriges Niveau. Dies stellt die Analyse des Magensaftes dar. Bei Gabe des Probetrunkes steigt die Extinktion relativ stark an. Dieser Anstieg verläuft bei der Biuretkurve steiler als bei der Folinkurve. Der weitere Kurvenverlauf ist unterschiedlich: die Extinktion kann konstant bleiben, leicht fallen oder steigen. Am Ende jedes Kurventeils, wenn an Stelle des Chymus Wasser in den Autoanalyser gepumpt wird, geht die Extinktion wieder rasch auf den Nullwert zurück.

Bei der ersten Versuchsreihe wurde zuerst Albumin, dann nach Absaugen des restlichen Mageninhaltes der AE 1-Trunk gegeben. Die erhaltenen Kurven ließen sich nach ihrem Verlauf in zwei Gruppen einteilen. Die Abbildungen 3 bis 10 stellen die erste Gruppe dar.

Bei dieser Gruppe von Versuchen erfolgt auf die Probetrunkgabe zunächst der übliche Extinktionsanstieg. Dann aber fällt beim Albuminprobetrunk die Extinktion der Folin- und Biuretkurve mehr oder weniger deutlich ab, während sie im zweiten Versuchsteil bei AE 1-Gabe zwar leicht fluktuiert, im Mittel aber auf konstantem Niveau bleibt.

Plötzlich auftretende, nur kurzdauernde Spitzen im Ablauf der Kurven sind bedingt durch Eiweißkoagel und haben keine Bedeutung.

Legende für die Abbildungen 3 - 10:

Einzelversuche der 1. Versuchsreihe, 1. Gruppe.

Die obere Kurve stellt jeweils den Extinktionsverlauf der Folinreaktion (F), die untere den der Biuretreaktion (B) dar. Die rechten Kurventeile wurden nach Gabe von Albumin, die linken nach Gabe von AE 1 registriert (Zugabe jeweils bei t = 0). Die Abnahme der Extinktion zwischen beiden Kurventeilen wird durch Absaugen und Verwerfen des restlichen Mageninhaltes und durch Ausspülen des Autoanalysers mit Wasser zwischen beiden Versuchsteilen verursacht.
Abszisse: Zeit (min) (von rechts nach links zu lesen);
Ordinate: Extinktion.
Die pH-Werte sind Mittelwerte für jeweils zehnminütige Intervalle.

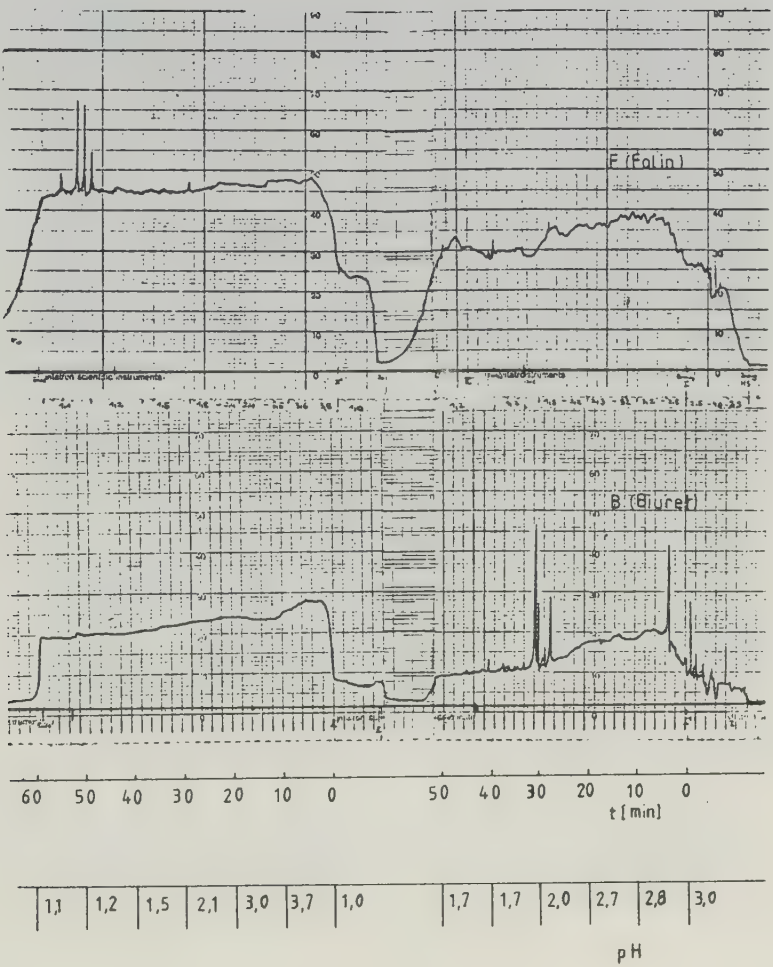


Abb. 3.
Versuch Nr. 9, männlicher Proband, 36 Jahre

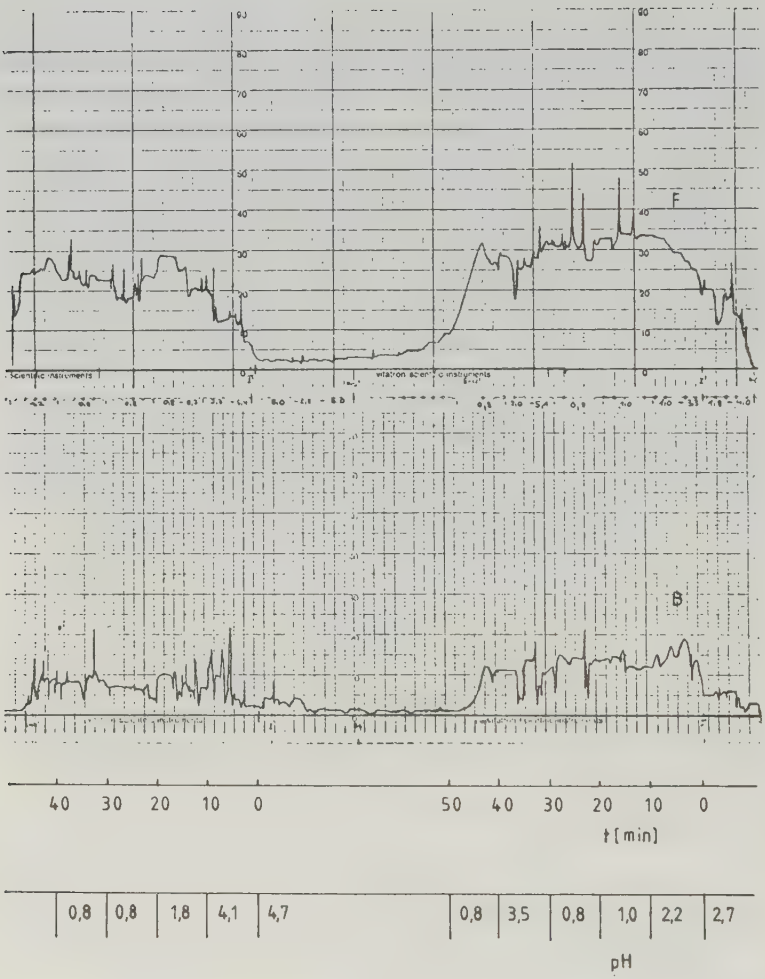


Abb. 4.
Versuch Nr. 14, männlicher Proband, 23 Jahre

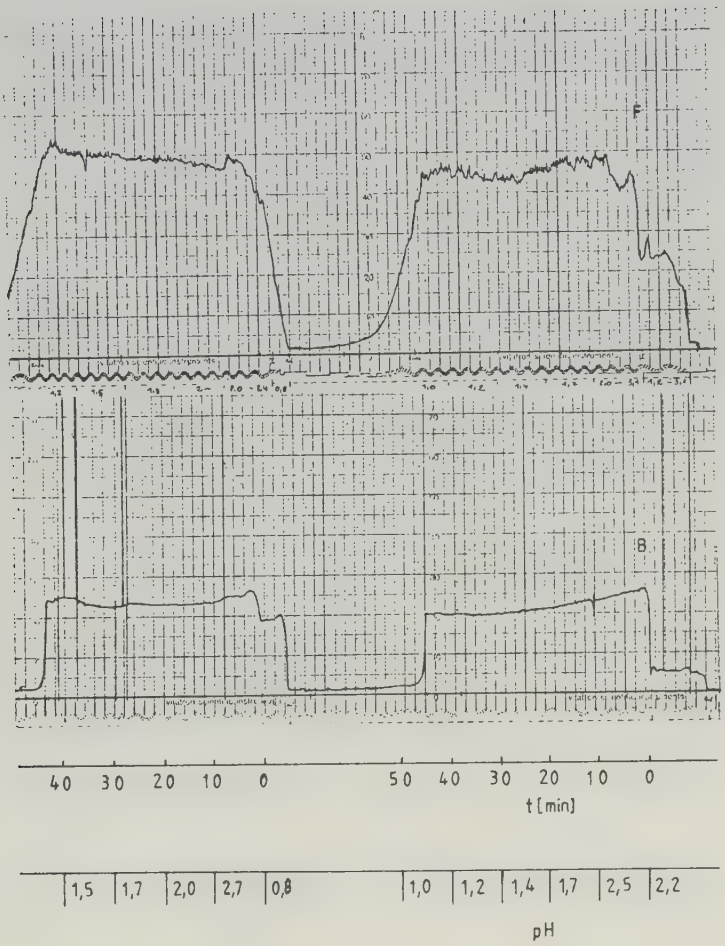


Abb. 5.
Versuch Nr. 31, weibliche Probandin, 26 Jahre

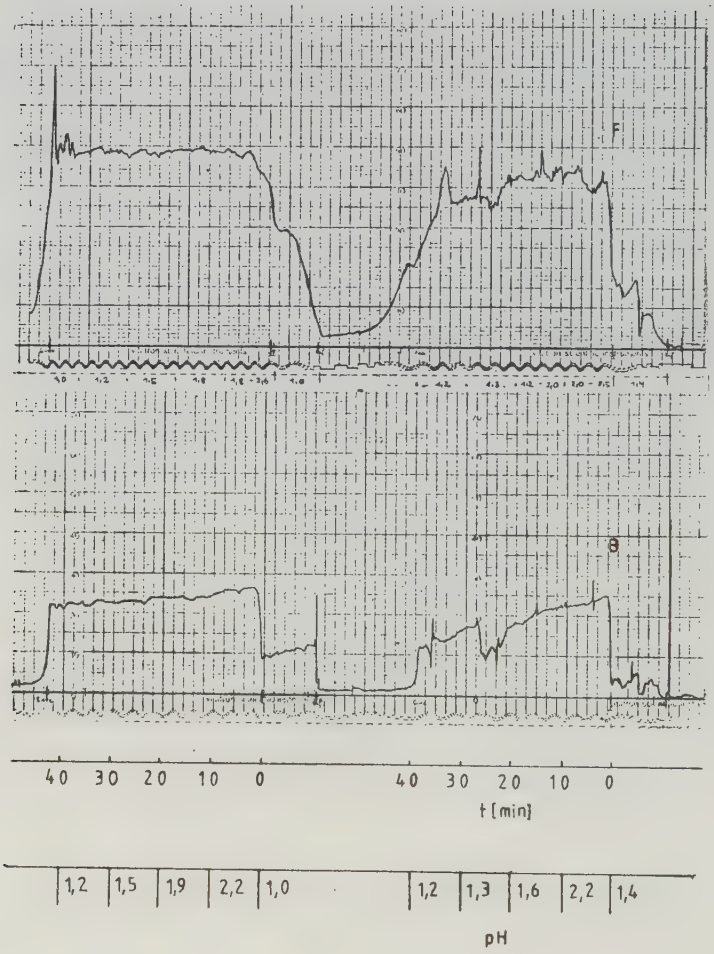


Abb. 6.
Versuch Nr. 30, weibliche Probandin, 25 Jahre

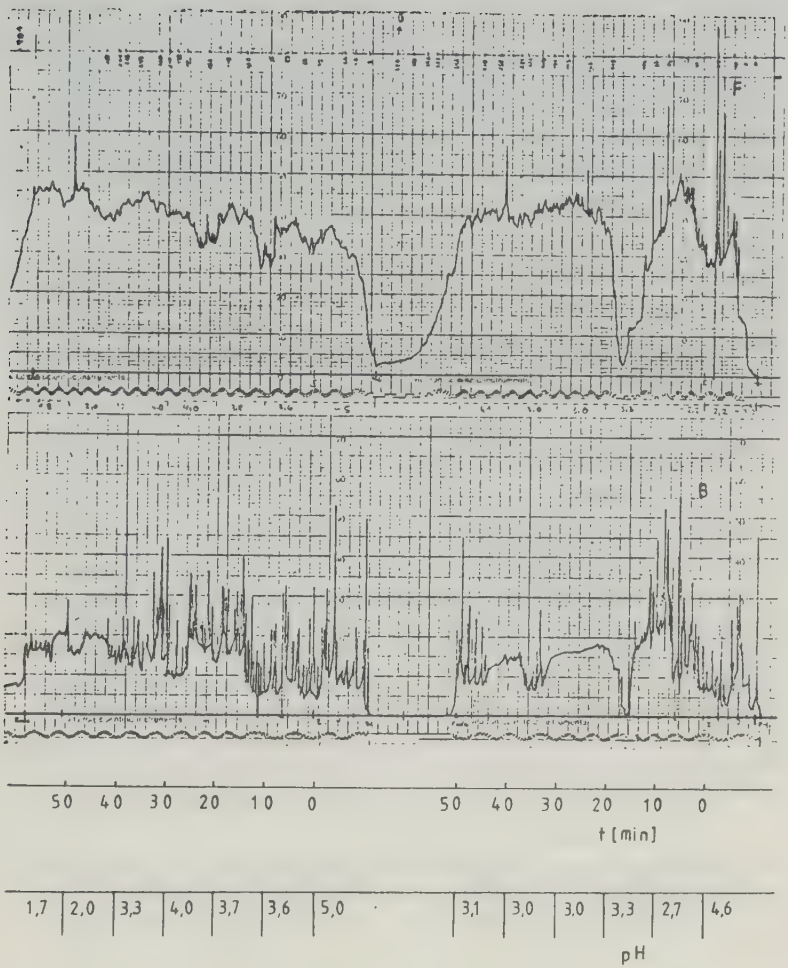


Abb. 7.
Versuch Nr. 36, weibliche Probandin, 24 Jahre

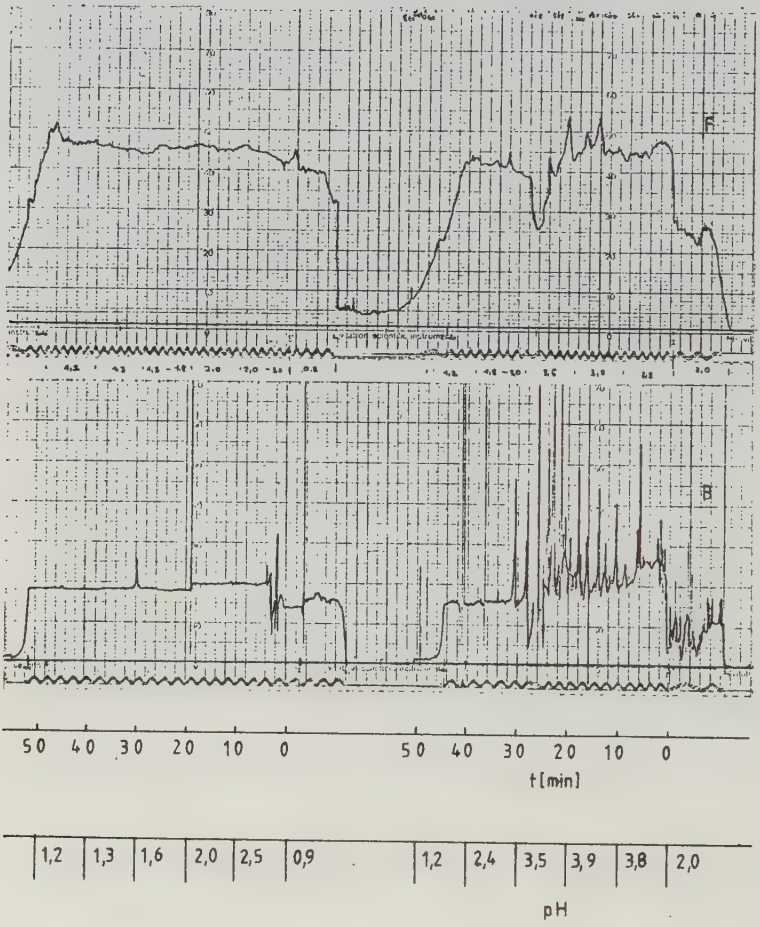


Abb. 8.
Versuch Nr. 26, weibliche Probandin, 23 Jahre

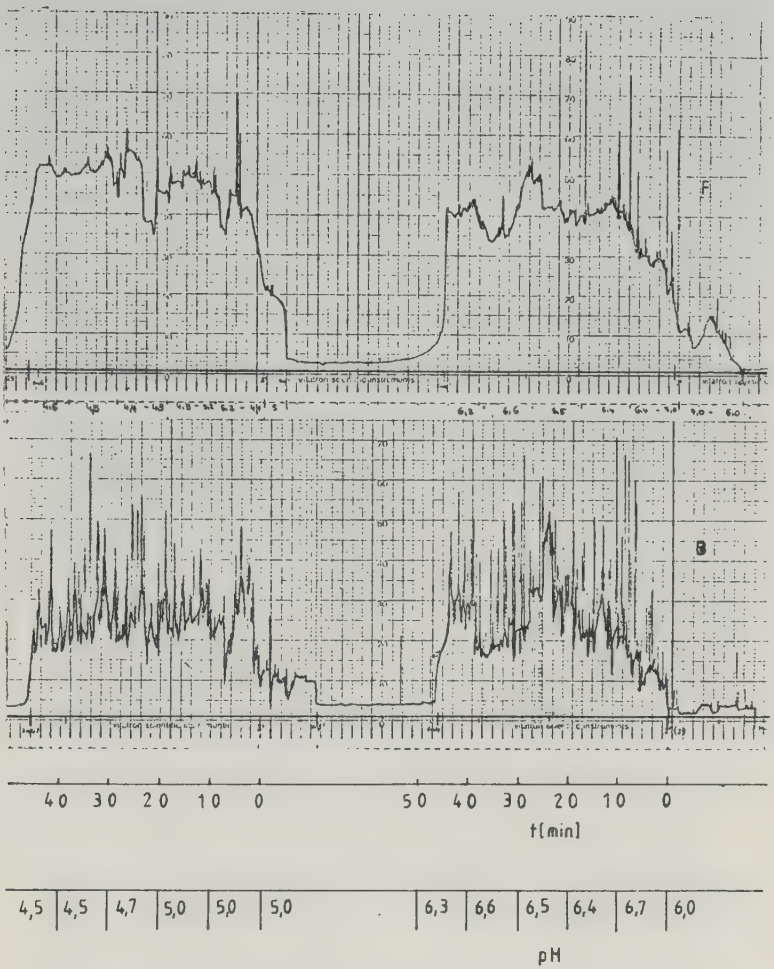


Abb. 9.
Versuch Nr. 19, weibliche Probandin, 22 Jahre

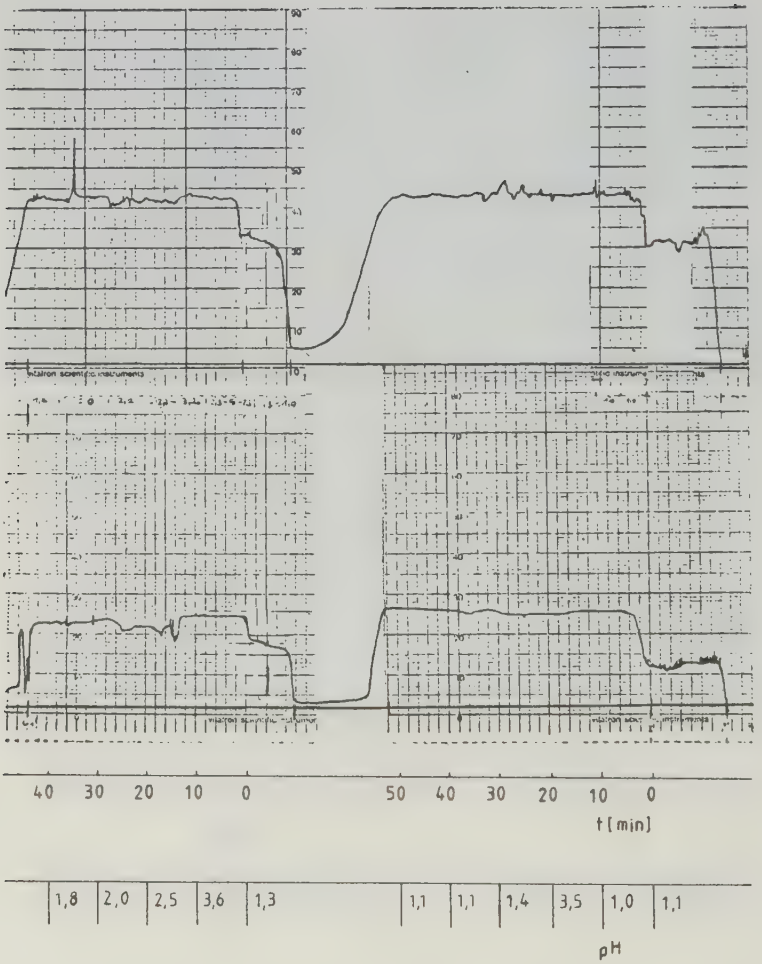
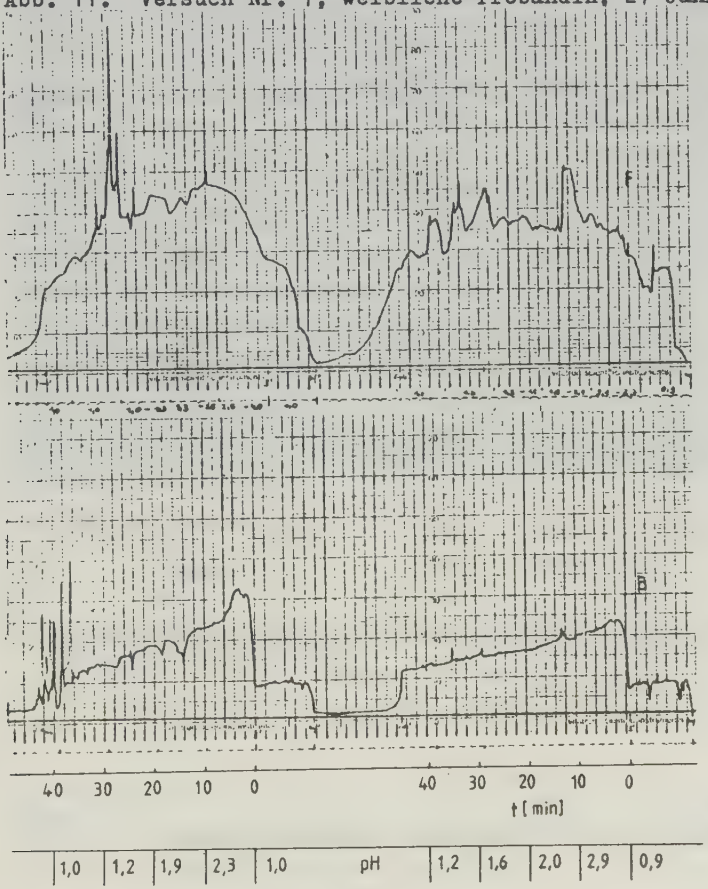


Abb. 10.
Versuch Nr. 11, weibliche Probandin, 24 Jahre
(seit mehreren Jahren Hyperazidität bekannt).
Wegen unregelmäßigem Tintenzufluß im Schreibgerät mußte bei diesem Versuch der (ansonsten eindeutige) Kurvenverlauf teilweise durchgepaust werden.

Die zweite Gruppe der ersten Versuchsreihe ist dargestellt in den Abbildungen 11 bis 15.

Hier steigen die Extinktionen nach Albumingabe mäßig an und bleiben dann bei leichten Schwankungen auf einem annähernd konstanten Niveau. Dagegen zeigt sich bei AE 1-Gabe einmal ein stärkerer initialer Anstieg und im weiteren Verlauf ein deutlicher Abfall der Extinktionen.

Abb. 11. Versuch Nr. 7, weibliche Probandin, 27 Jahre



Legende für die Abbildungen 11 - 15:
Einzelversuche der 1. Versuchsreihe, 2. Gruppe
(siehe Legende für die Abbildungen 3 - 10)

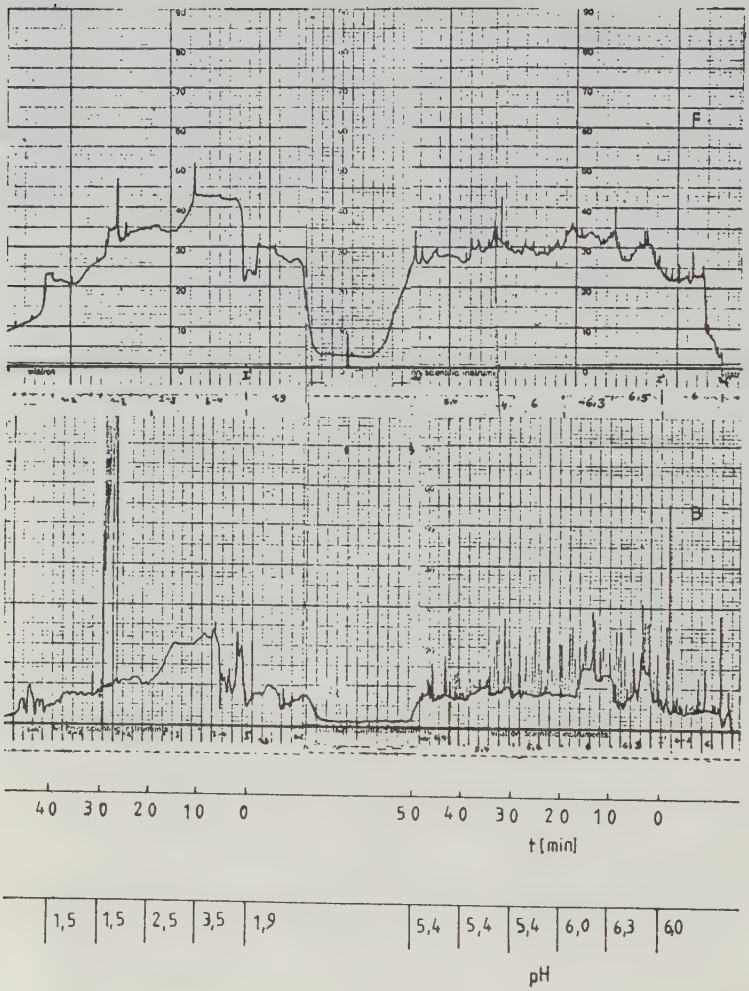


Abb. 12.
Versuch Nr. 13, männlicher Proband, 29 Jahre

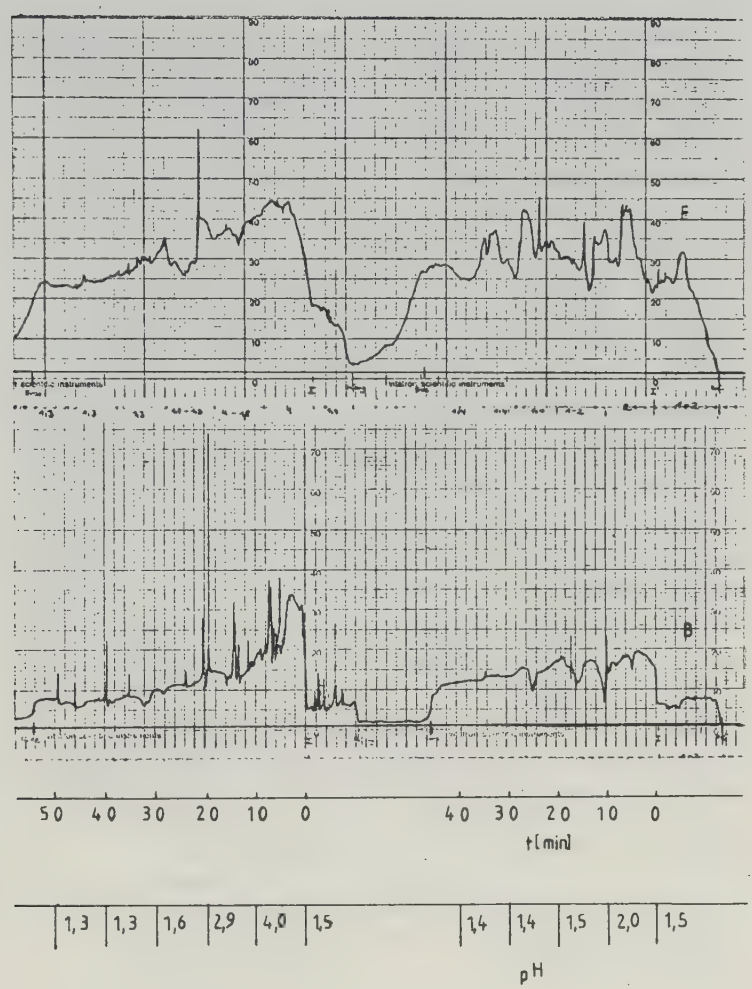


Abb. 13.
Versuch Nr. 15, männlicher Proband, 20 Jahre

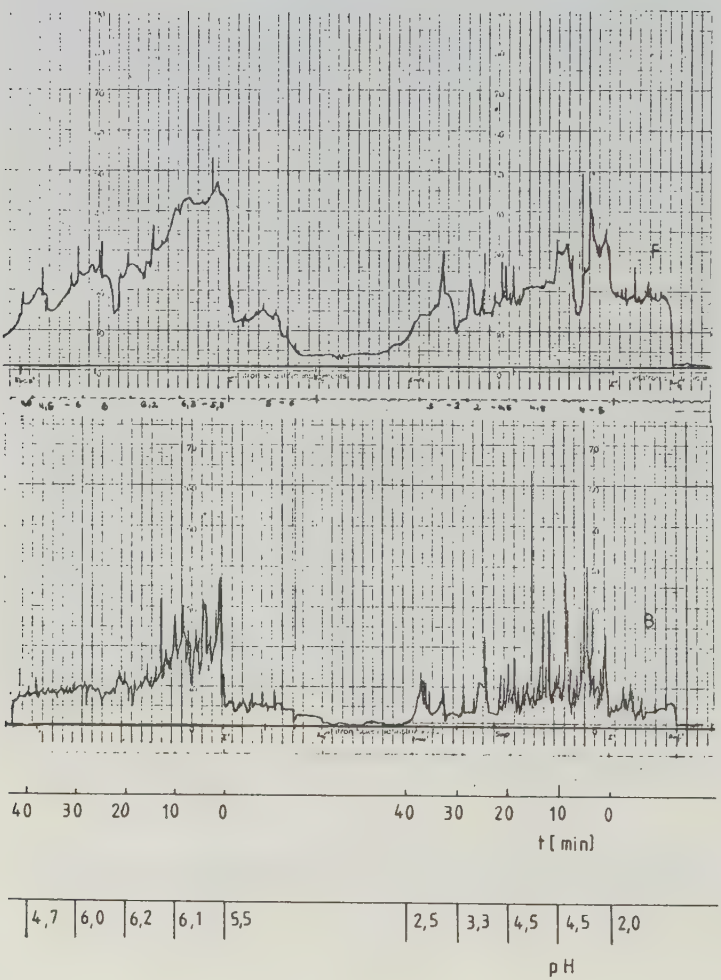


Abb. 14.
Versuch Nr. 16, männlicher Proband, 21 Jahre

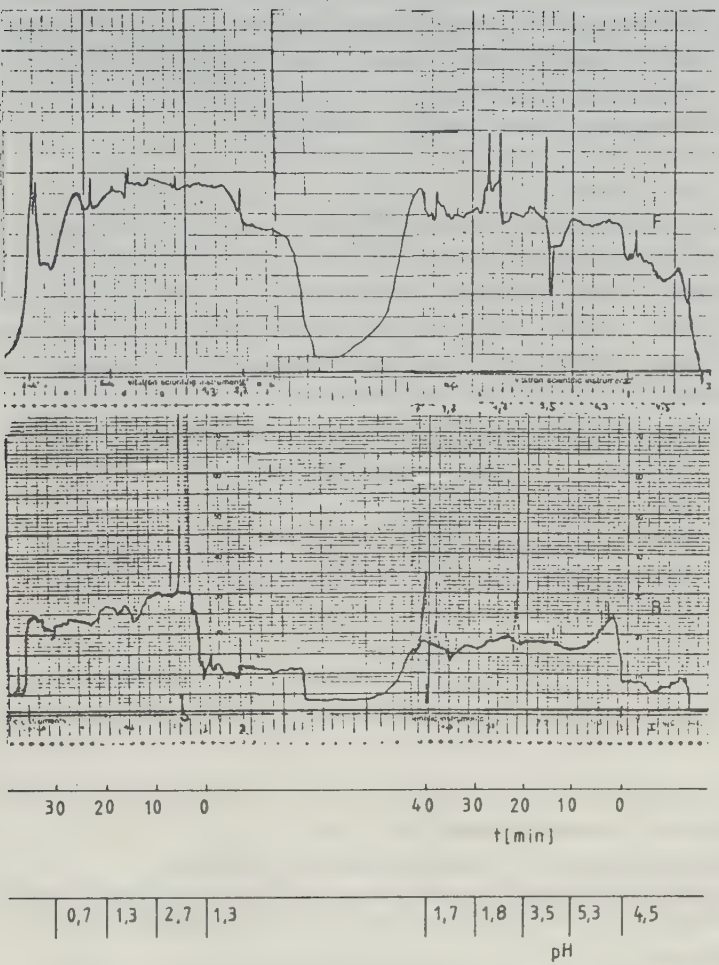


Abb. 15.
Versuch Nr. 17, männlicher Proband, 22 Jahre

Bei der zweiten Versuchsreihe wurde die Reihenfolge der Albumin- und AE 1-Gaben vertauscht: zuerst wurde AE 1 verabreicht und im zweiten Versuchsteil nach Absaugen des restlichen Mageninhaltes Albumin. Auch hier lassen sich die erhaltenen Kurven in zwei Gruppen einteilen.

Die Abbildungen 16 bis 19 zeigen die erste Gruppe der zweiten Versuchsreihe. Diese Gruppe ist dadurch gekennzeichnet, daß der Kurvenverlauf bei AE 1- und Albumingabe nur geringe Unterschiede aufweist, wobei auf den initialen Anstieg ein leichter Abfall folgt. Lediglich bei den Folinkurven erreicht die Extinktion bei AE 1-Gabe höhere Werte als bei Albumingabe (mit Ausnahme des Versuchs Nr. 18, Abb. 19).

Legende für die Abbildungen 16 - 19:

Einzelversuche der 2. Versuchsreihe, 1. Gruppe.

Die obere Kurve stellt jeweils den Extinktionsverlauf der Folinreaktion (F), die untere den der Biuretreaktion (B) dar.
Im Gegensatz zur 1. Versuchsreihe wurde bei der 2. Versuchsreihe zuerst AE 1 und dann Albumin verabreicht. Die rechten Kurventeile stellen damit in dieser Versuchsreihe den Extinktionsverlauf nach AE 1-Gabe, die linken den nach Albumingabe dar.

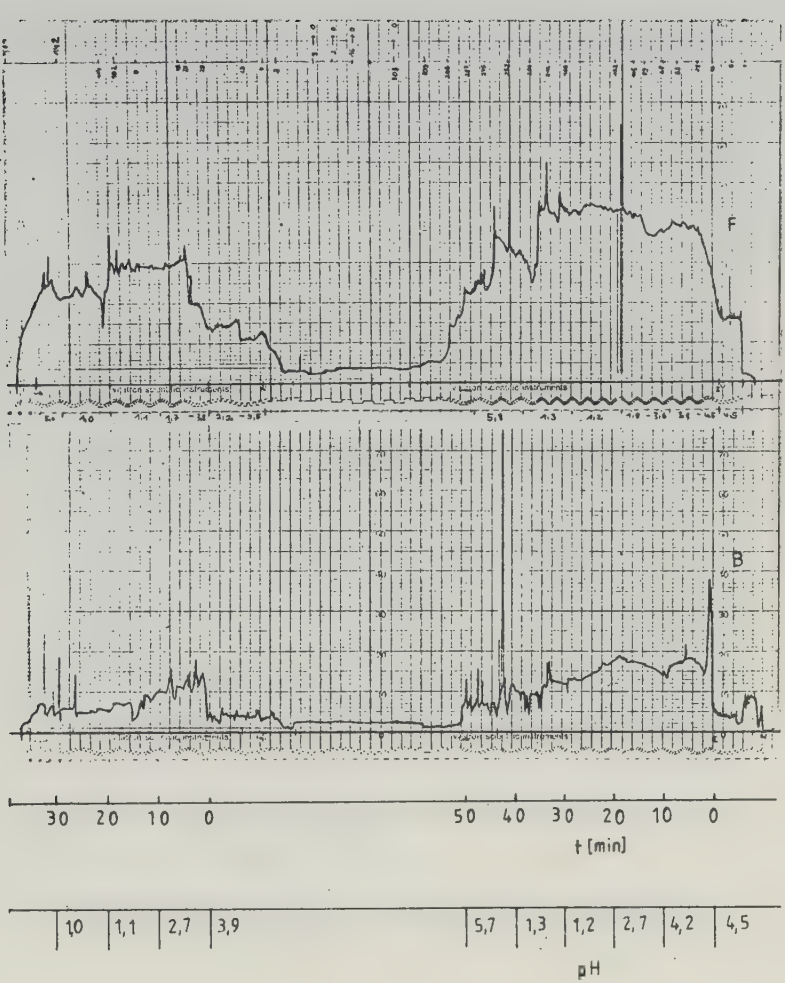


Abb. 16.
Versuch Nr. 32, weibliche Probandin, 24 Jahre

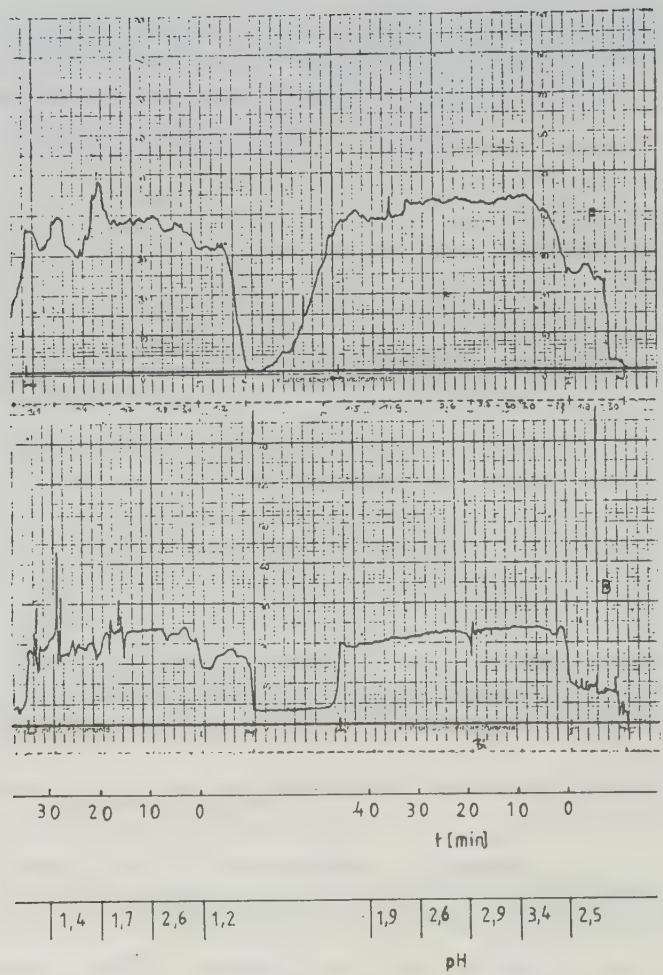


Abb. 17.
Versuch Nr. 22, weibliche Probandin, 24 Jahre

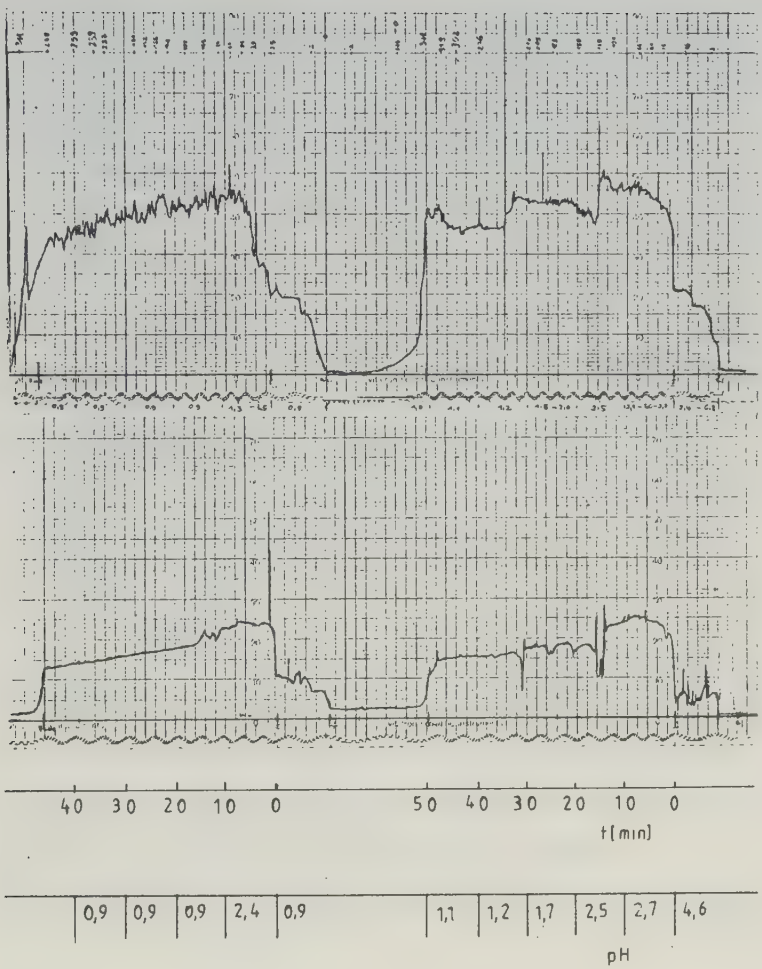


Abb. 18.
Versuch Nr. 27, männlicher Proband, 26 Jahre

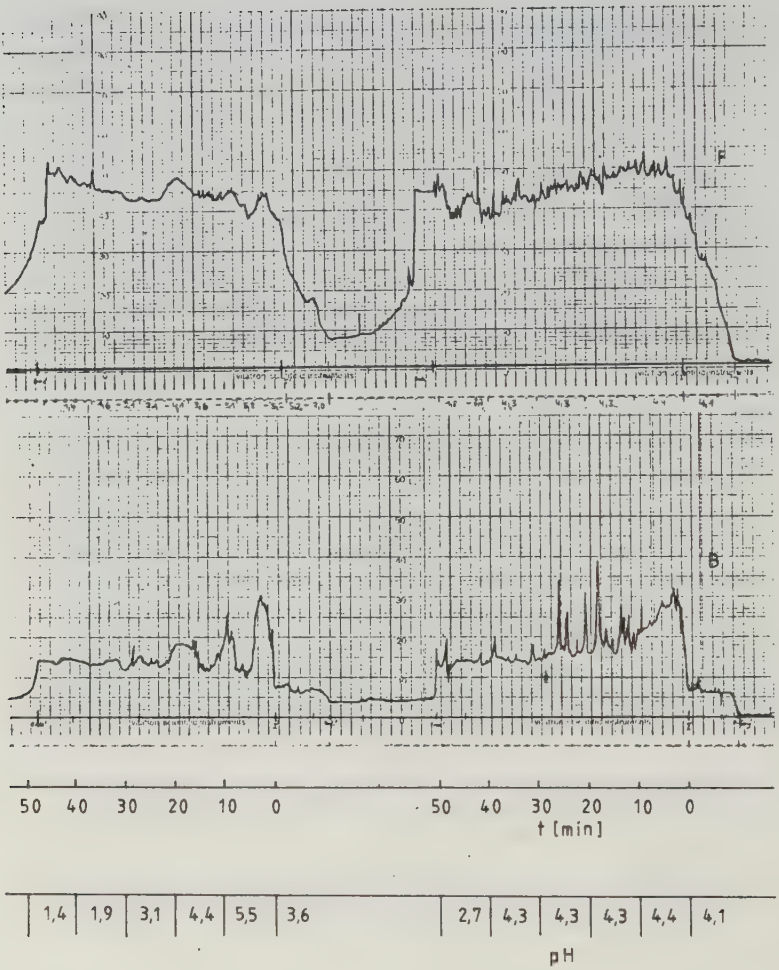


Abb. 19.
Versuch Nr. 18, weibliche Probandin, 21 Jahre

Die zweite Gruppe der zweiten Versuchsreihe umfaßt 6 Versuche (Abb. 20 bis 25). Hier bleiben die Folin- und Biuret-Werte nach dem initialen Anstieg im ersten Versuchsteil (AE 1-Gabe) nahezu konstant, während sie im zweiten Versuchsteil (Albumingabe) deutlich abfallen. Die erreichten Maxima zeigen keine Unterschiede bei AE 1- oder Albumingabe.

Diese Gruppe entspricht somit der ersten Gruppe der ersten Versuchsreihe (siehe Abb. 3 bis 10). In diesen beiden Gruppen bleiben die Extinktionen nach AE 1-Verabreichung konstant, nach Albuminverabreichung fallen sie ab.

Legende für die Abbildungen 20 - 25:
Einzelversuche der 2. Versuchsreihe, 2. Gruppe
(siehe Legende für die Abbildungen 16 - 19)

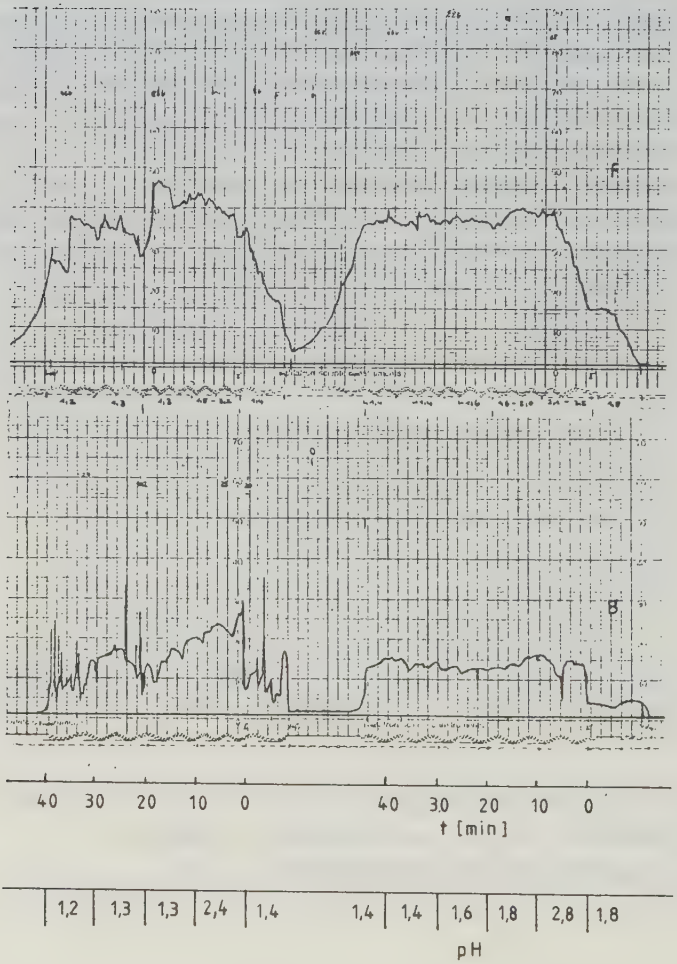


Abb. 20.
Versuch Nr. 25, männlicher Proband, 25 Jahre

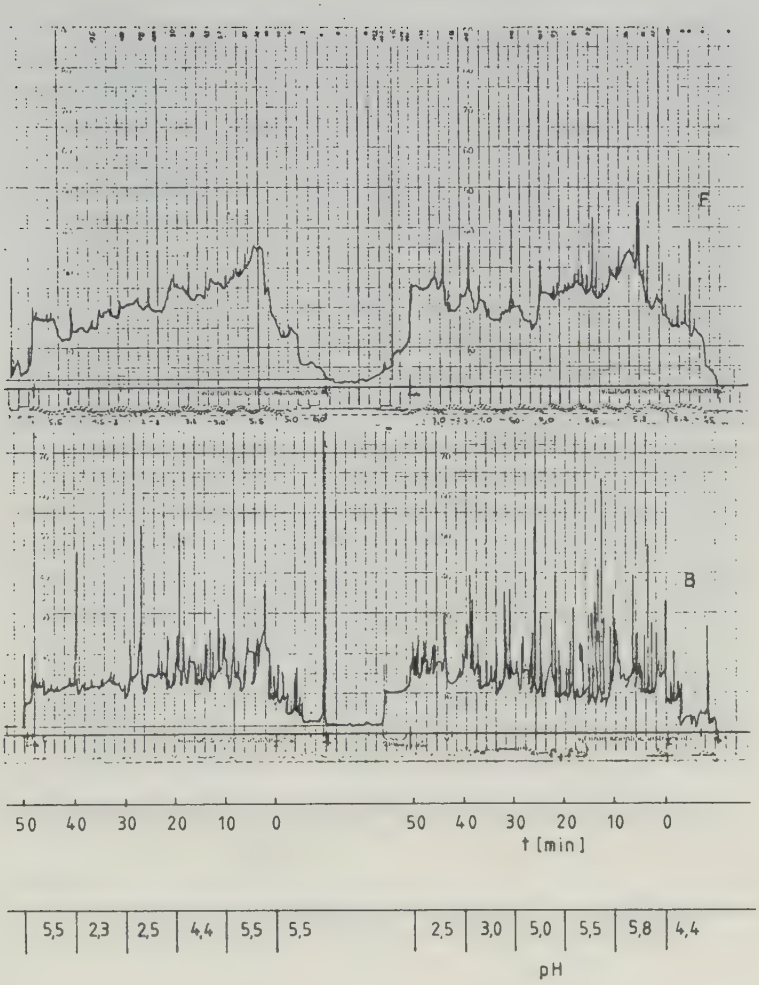


Abb. 21.
Versuch Nr. 28, männlicher Proband, 24 Jahre

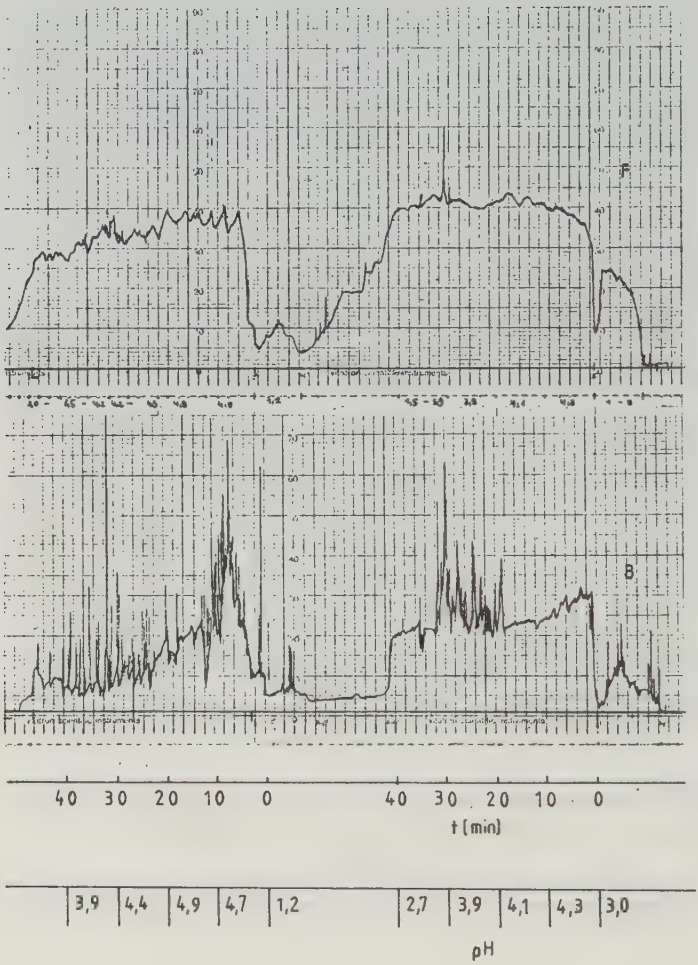


Abb. 22.
Versuch Nr. 24, weibliche Probandin, 26 Jahre

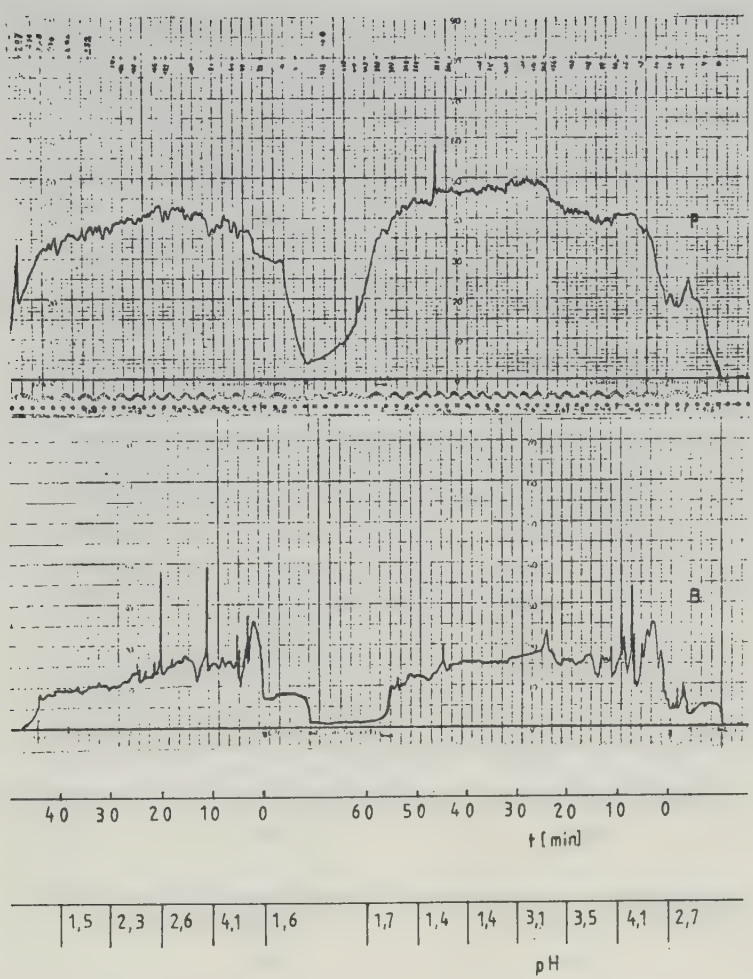


Abb. 23.
Versuch Nr. 33, weibliche Probandin, 28 Jahre

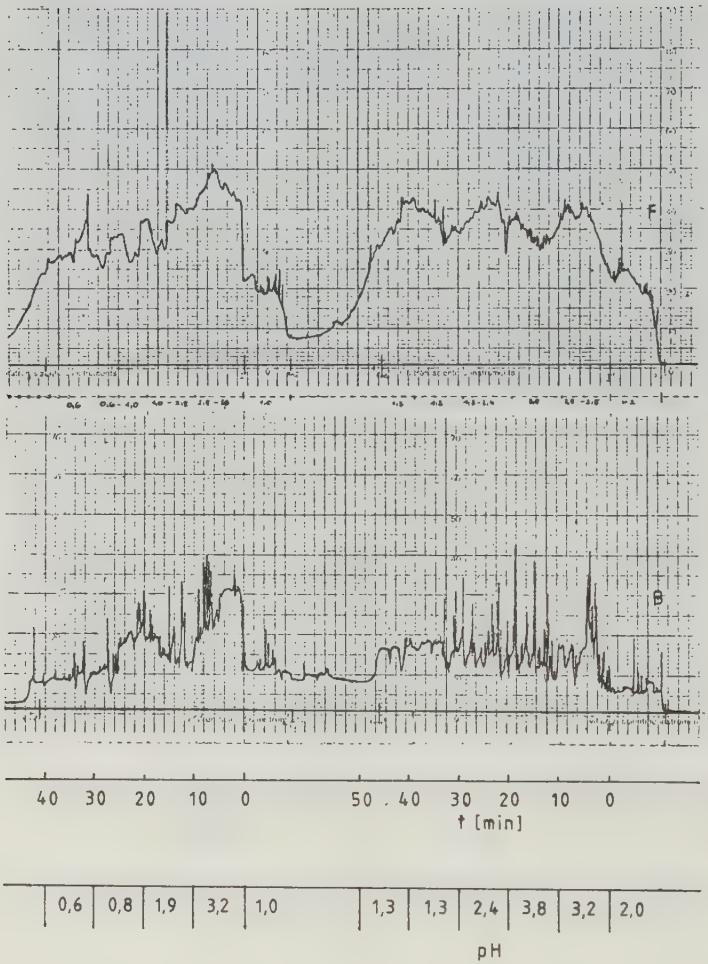


Abb. 24.
Versuch Nr. 21, weibliche Probandin, 26 Jahre

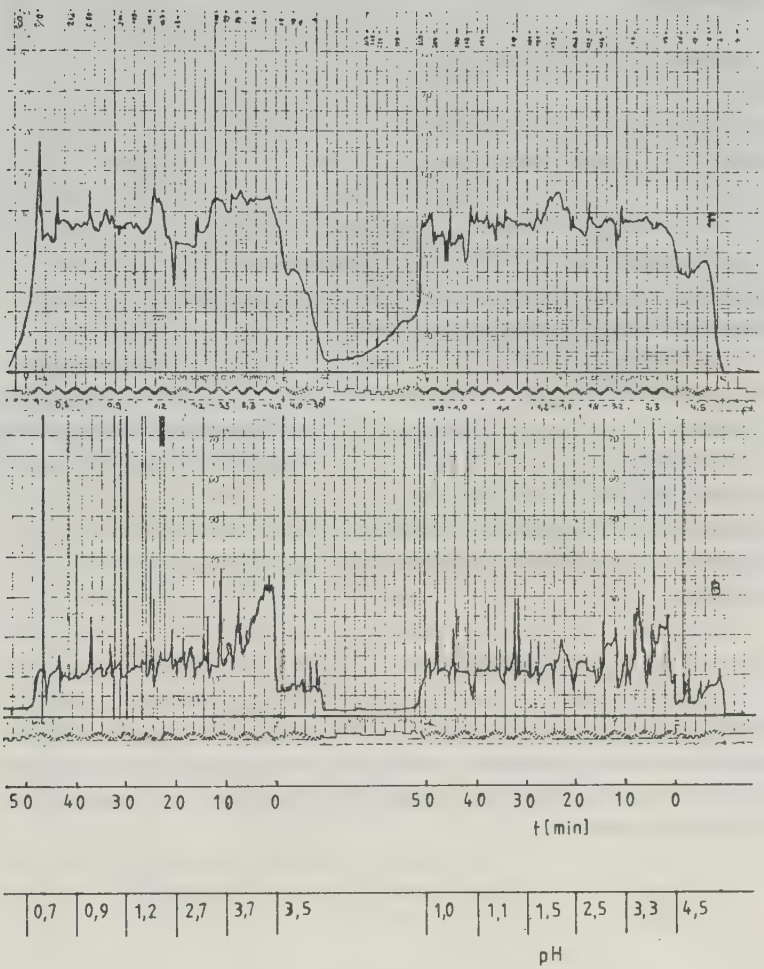


Abb. 25.
Versuch Nr. 34, männlicher Proband, 26 Jahre

3. Auswertung

3.1. Verdaulichkeitsquotient Q

Es gibt mehrere Möglichkeiten, die beschriebenen Kurvenverläufe mit ihren Charakteristika und Unterschieden zu quantifizieren, was für eine exakte Interpretation notwendig ist. Eine davon ist der Verdaulichkeitsquotient Q. Er ist definiert als das Verhältnis der Proteinkonzentration, die aus der Folinkurve ermittelt wurde, zu der entsprechenden Proteinkonzentration aus der Biuretkurve.

Für die Bestimmung des Verdaulichkeitsquotienten wurden die Zeitpunkte 5 ; 10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 min nach der Probetrunkgabe in der Folin- und der Biuretkurve markiert und die dazugehörigen Extinktionen abgelesen. Diese ließen sich mit Hilfe der Eichkurven in die entsprechenden Proteinkonzentrationen umrechnen. Ihr Verhältnis ergab dann den Verdaulichkeitsquotienten.

Die so erhaltenen Quotienten sind für Albumin in Abb. 26 und für AE 1 in Abb. 27 dargestellt. Für jeden der 6 ausgewählten Zeitpunkte wurden die Quotienten aus allen Versuchen übereinander eingezeichnet; außerdem wurde jeweils der arithmetische Mittelwert der Verdaulichkeitsquotienten berechnet und eingezeichnet.

Legende für die Abbildungen 26 und 27:

Darstellung der Verdaulichkeitsquotienten Q in Abhängigkeit von der Zeit nach Verabreichung von Albumin (Abb. 26) bzw. AE 1 (Abb. 27). Jede einzelne Marke stellt den Verdaulichkeitsquotienten eines Probanden zum jeweiligen Zeitpunkt dar. Die arithmetischen Mittel sind miteinander verbunden.

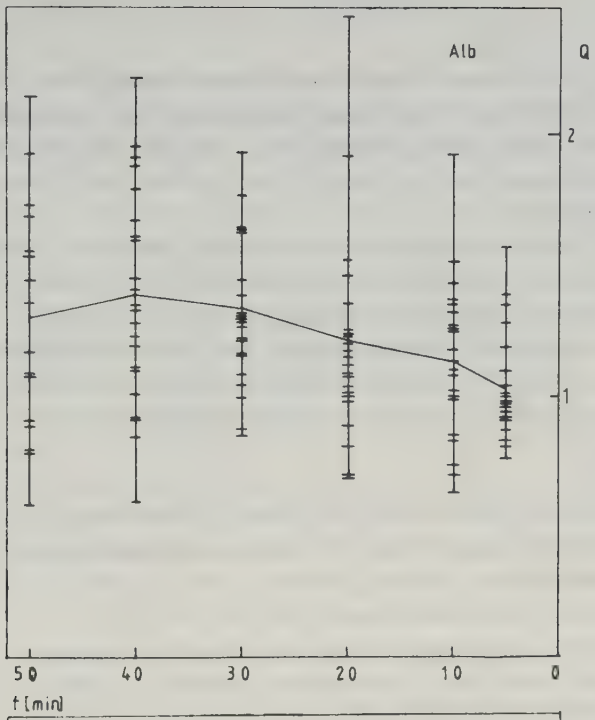


Abb. 26

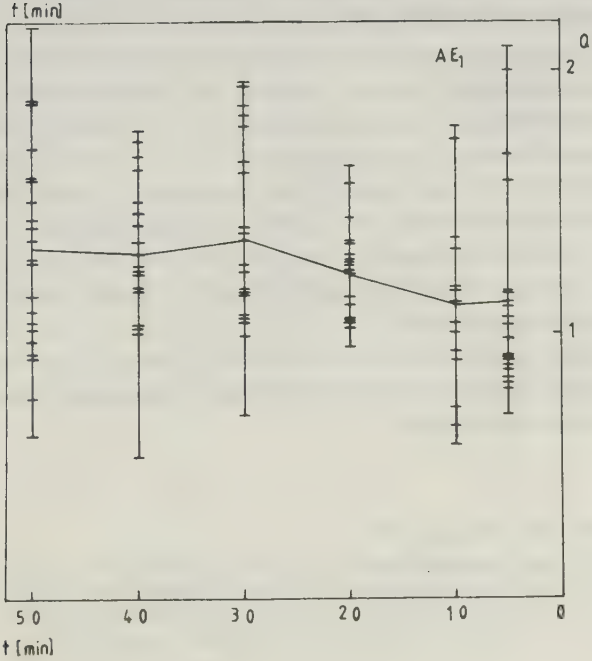


Abb. 27

Beim Verlauf des Verdaulichkeitsquotienten nach Albumingabe (Abb. 26) fällt auf, daß seine Mittelwerte im Intervall von 1,0 bis 1,4 liegen. Sie steigen von 5 min bis 30 min nach Albumingabe kontinuierlich an und bleiben in den restlichen 20 min etwa konstant.

Auch bei AE 1-Gabe befinden sich die Mittelwerte im selben Intervall (Abb. 27), steigen ebenfalls vom Beginn an bis 30 min nach AE 1-Gabe an und bleiben dann annähernd konstant.

Somit zeigen beide Mittelwertskurven der Verdaulichkeitsquotienten für sämtliche durchgeführten Versuche einen sehr ähnlichen Verlauf; ein signifikanter Unterschied ist hier nicht erkennbar.

Um feststellen zu können, ob die Verdaulichkeitsquotienten eventuell von der H^+-Ionen-Konzentration beeinflußt werden, wurden sie unterteilt in solche, die bei pH > 3, und in solche, die bei pH > 3 zustande kamen (Abb. 28 bis 31).

Sie sind genauso dargestellt wie in den vorhergehenden Abbildungen. Für jeden der 6 Zeitpunkte wurden die Verdaulichkeitsquotienten aus sämtlichen Versuchen je nach vorliegendem pH in die eine oder die andere Kurve eingezeichnet. Die Abb. 26 ist aufgeteilt in Abb. 28 und Abb. 29; die Abb. 27 ergab Abb. 30 und Abb. 31. Auch hier sind die Mittelwerte der Verdaulichkeitsquotienten eingezeichnet.

In den ersten 20 min liegt meist eine niedrige, danach eine höhere H^+-Ionen-Konzentration vor; daher konnten für pH > 3 im Intervall 5 bis 20 min mehr Werte gewonnen werden als danach. Umgekehrt kommen in den Kurven für pH < 3 mehr Punkte im letzten Zeitabschnitt vor.

Die Streuung der nach H^+-Ionen-Konzentrationen getrennten Verdaulichkeitsquotienten ist nicht verändert gegenüber den nicht aufgeteilten Quotienten.

Legenden für die Abbildungen 28 - 31:

Abb.28. Verlauf der Verdaulk.quot. Q für Albumin bei pH < 3
Abb.29. Verlauf der Verdaulk.quot. Q für Albumin bei pH > 3
Abb.30. Verlauf der Verdaulk.quot. Q für AE 1 bei pH < 3
Abb.31. Verlauf der Verdaulk.quot. Q für AE 1 bei pH > 3

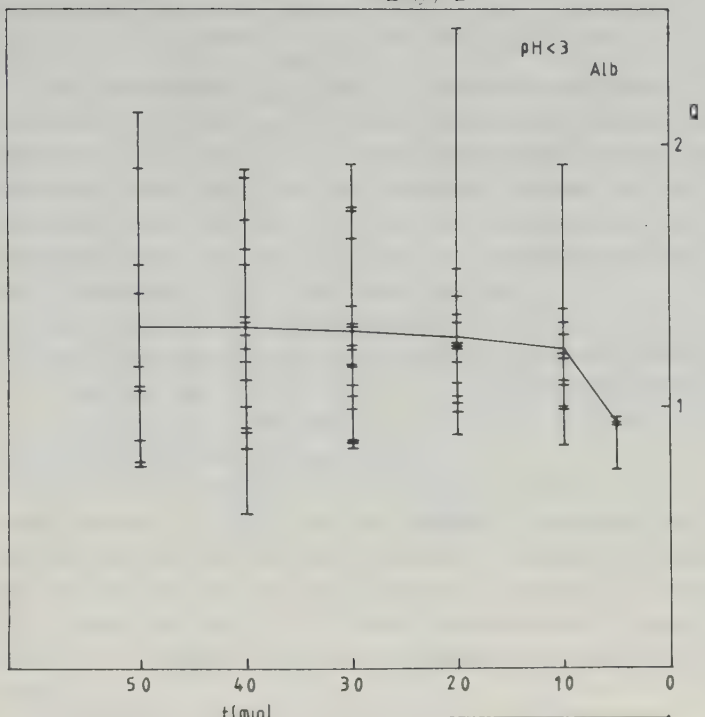

pH<3
Alb
Q
2
1
50
40
30
20
10
0
t(min)

Abb. 28

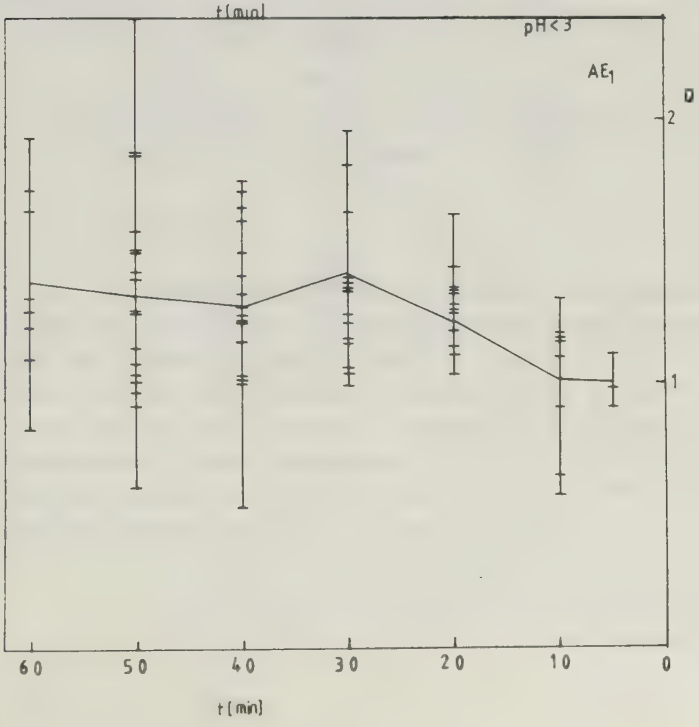

pH<3
AE1
Q
2
1
60
50
40
30
20
10
0
t(min)

Abb. 30

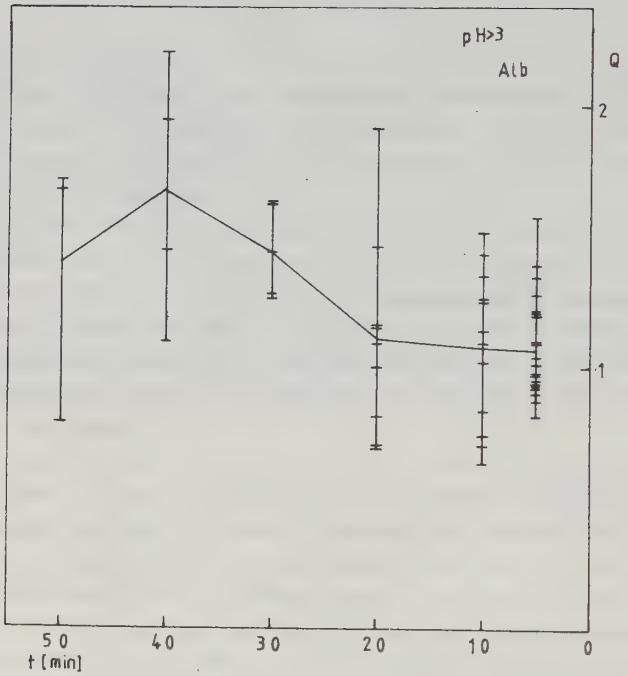


Abb. 29

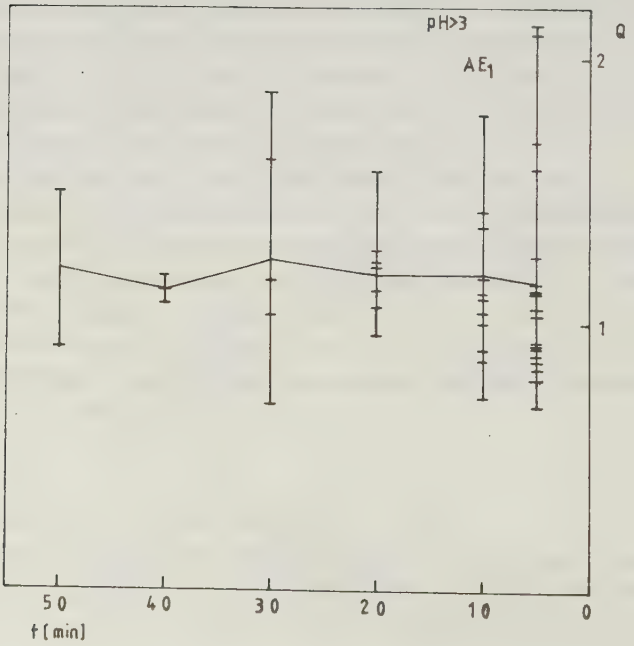


Abb. 31

Bei Albumingabe und hoher H^+-Ionen-Konzentration (pH < 3) zeigt sich zunächst ein steiler Anstieg des Quotienten von 0,9 auf 1,22 ; dann ab 10 min nach Probetrunkgabe bis Versuchsende nur noch eine sehr geringe Zunahme bis zum Wert 1,3. Hingegen nimmt der Quotient bei AE 1-Gabe und pH < 3 bis 30 min nach AE 1-Gabe von 1,0 auf 1,42 zu; während der restlichen Zeit verändert er sich nur noch wenig.

Bei niedriger H^+-Ionen-Konzentration (pH > 3) bleibt der Verdaulichkeitsquotient nach Albumingabe anfänglich bei etwa 1,2 konstant und steigt dann ab 20 min an. Bei AE 1-Verabreichung hingegen schwankt er von Versuchsbeginn bis -ende lediglich geringfügig um den Wert 1,2.

Bei pH < 3 scheinen die Verdaulichkeitsquotienten bei AE 1 etwas höher zu liegen als bei Albumin, zumindest für mehr als 30 min nach Probetrunkgabe. Dagegen ergeben sich bei pH > 3 bei Albumin ab 30 min Verdauungszeit höhere Mittelwerte der Quotienten als für AE 1. Jedoch beruht dieser Meßwert nur auf sehr wenig Einzelwerten und ist daher nur beschränkt aussagefähig.

3.2. Vergleich der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration nach Albumin- und AE 1-Gabe

3.2.1. Mittelwerte

Wie im Abschnitt "Methoden" (D 5.2.) bereits erläutert, bestimmt die Folinreaktion die Aminosäuren Tyrosin und Tryptophan des Chymus. Um vergleichen zu können, ob sich die Freisetzung dieser Aminosäuren bei Pepsinzugabe gegenüber der Gabe von reinem Albumin verändert, wurden die Mittelwerte der Konzentrationen dieser Aminosäuren aus den Folinkurven berechnet, und zwar einmal für die ersten 20 min und einmal für die gesamte Versuchsdauer (Abb. 32 und 33).

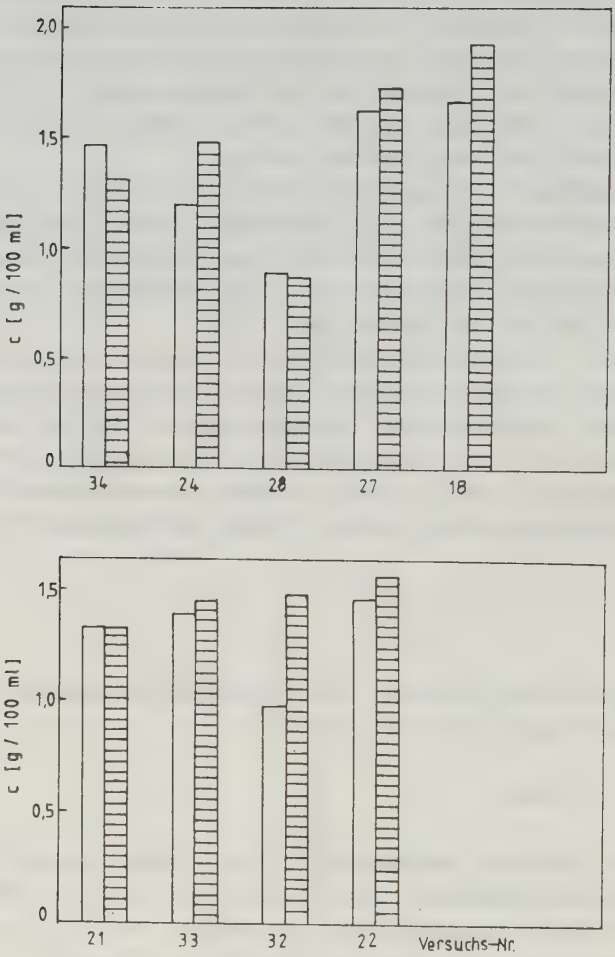


Abb. 32 a

Legende für die Abbildungen 32 a und b:

Mittelwerte der über freigesetztes Tyrosin und Tryptophan bestimmten Proteinkonzentration für die anfänglichen 20 Minuten jedes einzelnen Versuches. Die weißen Säulen entsprechen der Albumingabe, die quergestreiften der AE 1-Gabe.

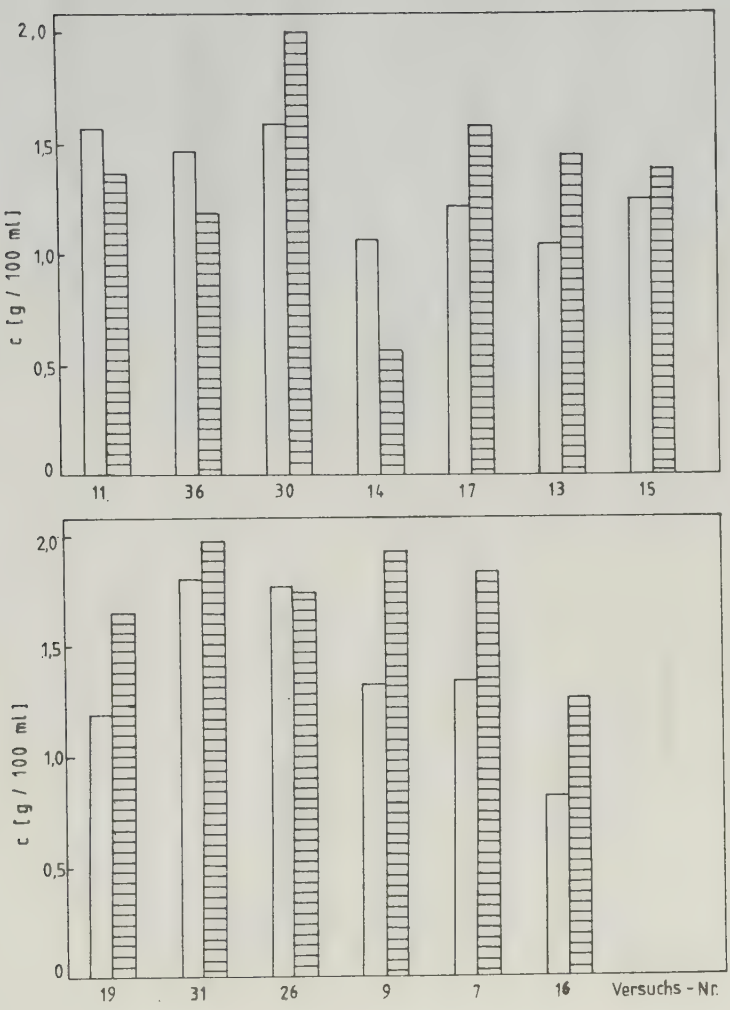

2,0
1,5
1,0
0,5
0
c [g / 100 ml]
11
36
30
14
17
13
15
19
31
26
9
7
16
Versuchs - Nr.

Abb. 32 b

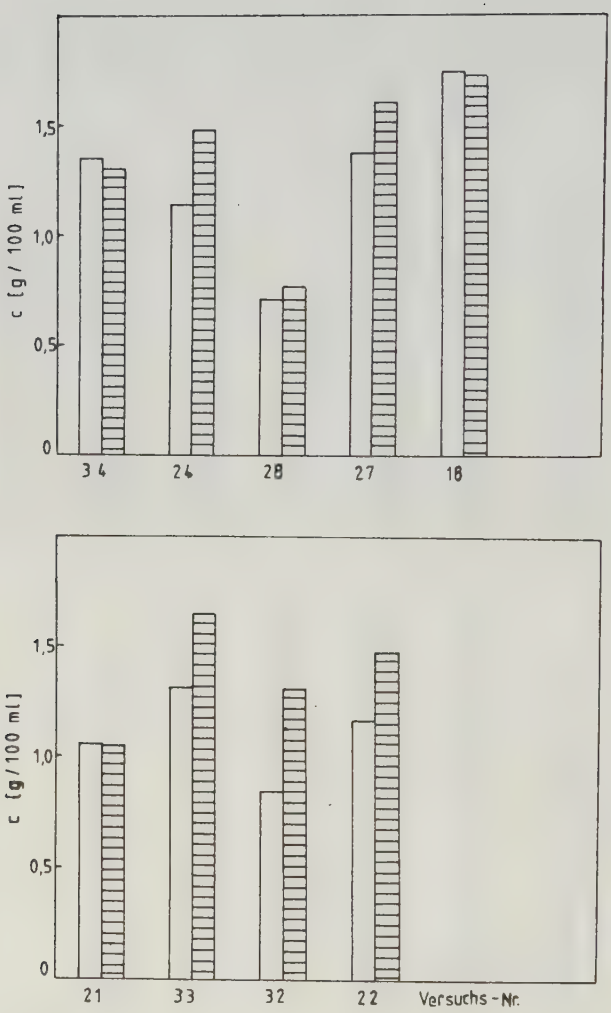


Abb. 33 a

Legende für die Abbildungen 33 a und b:

Mittelwerte der über freigesetztes Tyrosin und Tryptophan bestimmten Proteinkonzentration für die gesamte Versuchsdauer jedes einzelnen Versuches. Die weißen Säulen entsprechen der Albumingabe, die quergestreiften der AE 1-Gabe.

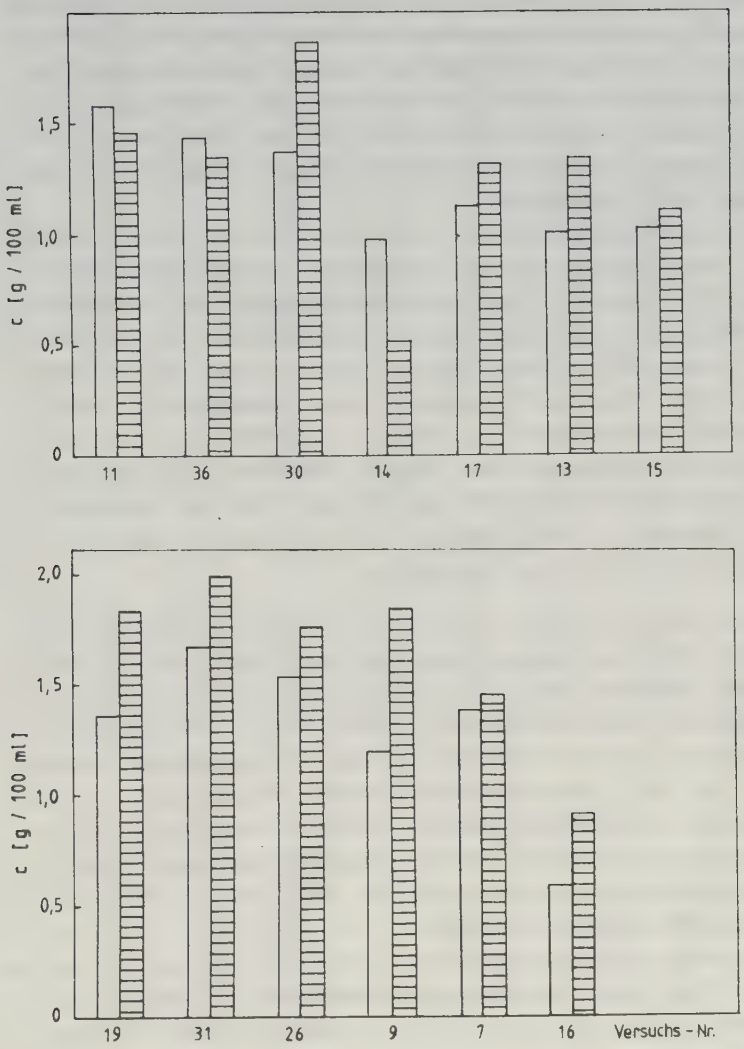

c [g / 100 ml]
0
0,5
1,0
1,5
11
36
30
14
17
13
15
c [g / 100 ml]
0
0,5
1,0
1,5
2,0
19
31
26
9
7
16
Versuchs - Nr.

Abb. 33 b

Abb. 32 a und b stellen die Konzentrationsmittelwerte der ersten 20 min jedes Versuches für Albumin und AE 1 nebeneinander dar. Bei den Versuchen der ersten Versuchsreihe ist in 6 Versuchen der Mittelwert der Tyrosin-/Tryptophan-Konzentrationen nach AE 1-Gabe höher als nach Albumingabe, in einem Versuch ist der Mittelwert geringer, und in 2 Versuchen besteht kein Unterschied.

Bei den 13 Versuchen der zweiten Versuchsreihe ist wieder beim überwiegenden Teil (9 Versuchen) das arithmetische Mittel der Tyrosin-/Tryptophan-Konzentrationen der ersten 20 min nach AE 1-Gabe höher als nach Albumingabe; lediglich bei 4 Versuchen zeigte sich das Gegenteil. Es spielt somit keine Rolle, welcher Probetrunk zuerst verabreicht wurde; von allen auswertbaren Versuchen zeigen 15 für die ersten 20 min der Verdauung einen höheren Mittelwert der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentrationen bei AE 1-Gabe im Vergleich zur Albumingabe, lediglich 5 einen niedrigeren; bei 2 Versuchen fand sich kein Unterschied.

Die Abb. 33 a und b zeigen die arithmetischen Mittel der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentrationen berechnet für die gesamte Versuchsdauer. Hier ergibt sich bei der ersten Versuchsreihe genau dasselbe wie vorher: bei 6 Versuchen ist das Mittel nach AE 1-Gabe höher, bei 1 Versuch nach Albumingabe, und bei 2 Versuchen besteht kein Unterschied.

In der zweiten Versuchsreihe ist der Mittelwert der Konzentrationen berechnet für die ganze Versuchsdauer bei 10 Versuchen nach AE 1-Gabe höher als nach Albumingabe, bei 3 Versuchen dagegen geringer.

Demnach spielt auch hier die Reihenfolge keine Rolle; das Mittel der Konzentrationen an Tyrosin und Tryptophan des Chymus ist nach AE 1-Gabe bei der überwiegenden Zahl der Versuche höher.

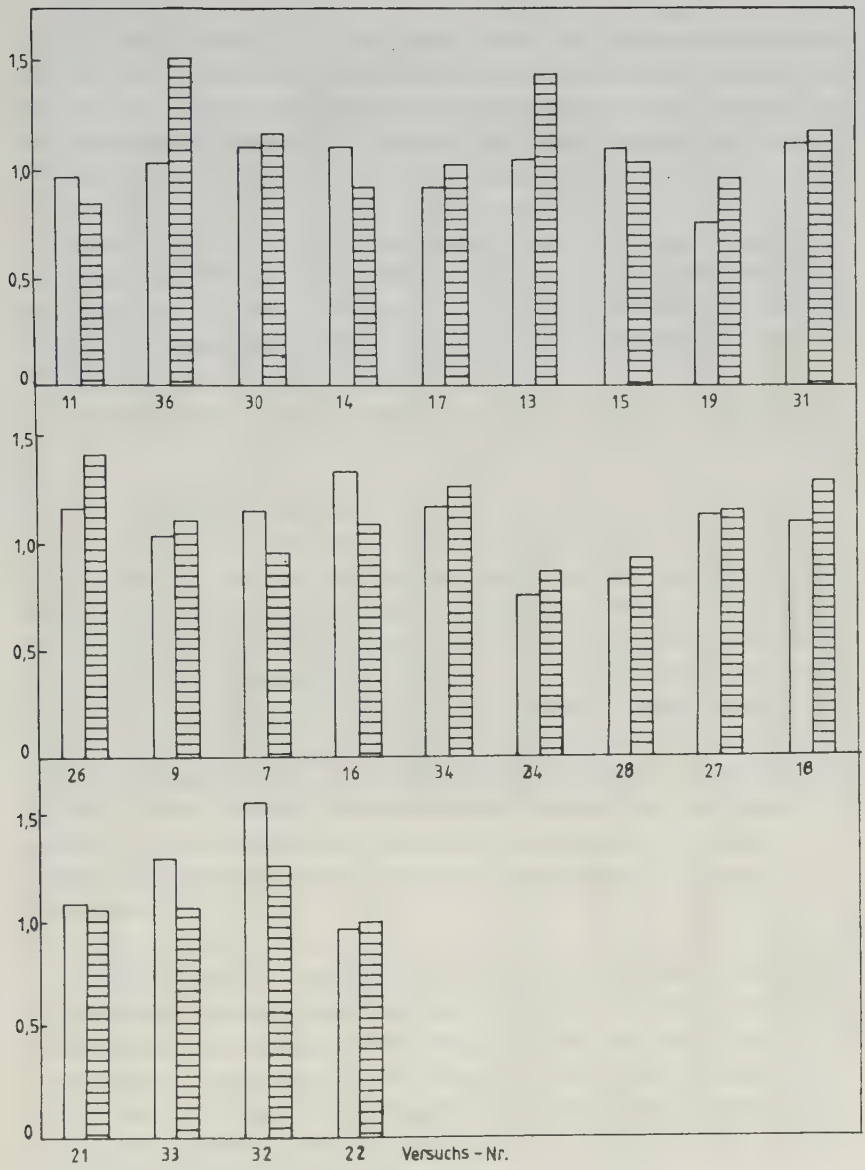


Abb. 34. Quotienten X_1 (Mittelwerte der Proteinkonzentration der ersten 20 min jedes Versuches berechnet aus der Folinreaktion : Mittelwerte der Proteinkonzentration der ersten 20 min berechnet aus der Biuretreaktion).
Weiße Säulen: Albumin; quergestreifte Säulen: AE 1.

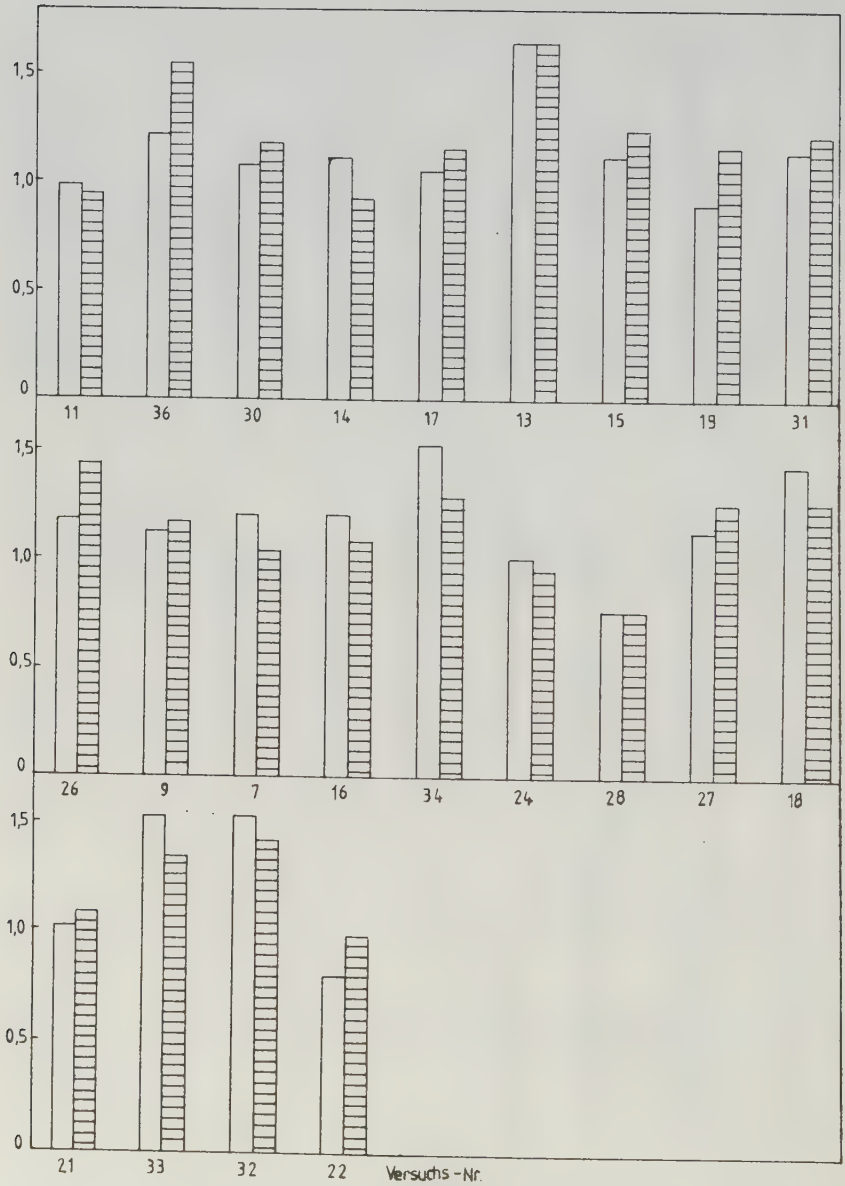


Abb. 35. Quotienten X_2 (entsprechend Quotienten X_1, nur für die gesamte Versuchsdauer berechnet)

Weiterhin wurde noch das Verhältnis von diesen Mittelwerten der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentrationen zu den Mittelwerten der Konzentrationen aus der Biuretkurve für Albumin und AE 1 gebildet. Es wird X_1 genannt für den Zeitraum der ersten 20 min (Abb. 34) und X_2 für die gesamte Versuchsdauer (Abb. 35).

Dabei ergibt sich, daß das Verhältnis X_1 bei AE 1 in 13 Versuchen größer, in 2 Versuchen gleich und in 7 Versuchen geringer ist als bei Albumin. X_2 ist für AE 1 dagegen lediglich in 11 Versuchen größer, in 9 Versuchen kleiner; in 2 Versuchen bestand kein Unterschied.

3.2.2. Flächenberechnung

Bei den 10 letzten durchgeführten Versuchen konnten die Folin- und die Biuret-Extinktionskurven mit einem im Schreiber eingebauten Integrator integriert werden. Für die Auswertung wurde zunächst das Integral für gleiche, möglichst die gesamte Versuchsdauer umfassende Zeitintervalle abgelesen. Darauf wurde das Verhältnis zwischen dem Integral über die Folin-Extinktionskurve nach AE 1-Gabe und dem Integral über die gleiche Kurve nach Albumingabe berechnet; dieser Quotient wurde F_1 genannt (Tabelle 3). Die Biuret-Extinktionskurven wurden genauso ausgewertet und das Verhältnis F_2 genannt (Tabelle 4).

Tabelle 3 zeigt, daß bei 8 Versuchen die Flächen unter der Folin-Kurve nach AE 1-Gabe größer und nur bei 2 Versuchen kleiner als nach Albumingabe sind. Die Flächen unter der Biuret-Kurve (Tabelle 4) sind hingegen lediglich in etwa der Hälfte der Versuche (6 Versuche) nach AE 1-Gabe größer als nach Albumingabe. Dies wäre in Übereinstimmung mit den vorhergehenden Ergebnissen (3.2.1.).

Tabelle 3

Versuchs-nummer	$F_1 = \frac{\text{Integral Folin (AE 1)}}{\text{Integral Folin (Alb.)}}$
34	1,00
28	1,16
33	1,14
25	0,98
32	1,72
27	1,08
31	1,07
30	1,22
26	1,08
36	1,02

Tabelle 4

Versuchs-nummer	$F_2 = \frac{\text{Integral Biuret (AE 1)}}{\text{Integral Biuret (Alb.)}}$
34	0,94
28	0,97
33	1,28
25	0,95
32	1,45
27	1,01
31	1,15
30	1,20
26	0,99
36	1,04

4. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Mit Hilfe eines Autoanalysers wurde der Ablauf der Proteolyse nach Verabreichung eines Albuminprobetrunks mit bzw. ohne Pepsinbeigabe verfolgt. Es handelt sich um eine Methode der gleichzeitigen, kontinuierlichen und intragastralen Registrierung der Parameter
   a) Proteinkonzentration, ermittelt durch Biuretreaktion,
   b) Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration, ermittelt durch Folinreaktion, und
   c) pH-Wert, ermittelt durch potentiometrische Messung.

2. Die erhaltenen Kurven wurden in vier Gruppen eingeteilt, für die gemeinsam mehr oder weniger gilt:
   Die Biuretkurven verlaufen ohne große Änderungen; sie zeigen meistens einen geringfügigen Abfall.
   Die Folinkurven weisen nach einem deutlichen Anfangsgipfel mit folgendem steilen Abfall große Schwankungen auf.
   Diese Kurven werden durch Pepsinzusatz und pH-Unterschiede nicht charakteristisch geändert.

3. Die Verdaulichkeitsquotienten werden durch Enzymzugabe kaum beeinflußt; sie sind weiterhin breit gestreut. Ihre Mittelwerte steigen in der Anfangsphase an und bleiben dann bei annähernd 1,3 konstant.

4. Die Einteilung der Verdaulichkeitsquotienten nach pH-Wert läßt jedoch Unterschiede erkennen: In der Anfangsphase der Proteolyse (erste 20 Minuten) bewirkt der Enzymzusatz einen Anstieg des Quotientenmittelwertes. Das bedeutet eine Beschleunigung der Proteolyse. Während der restlichen Versuchsdauer besteht bei Enzymzusatz eher eine Neigung zur Quotientendepression, deren Ursache noch diskutiert wird. Im weniger sauren Bereich (pH > 3) sind diese Änderungen stärker nachweisbar.

5. Die Enzymbeimengung erhöht die absoluten Mittelwerte der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration sowohl während der Anfangsphase als auch während der gesamten Versuchsdauer.

6. Ein relativer Anstieg des Mittelwertes der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration (Folinwert) im Verhältnis zum Gesamtprotein (Biuretwert) läßt sich nur in der Anfangsphase der Proteolyse nachweisen.

7. Aus der Integration der Folinkurve ergibt sich bei Enzymzusatz eindeutig eine Vergrößerung der Fläche unter der Kurve, d.h. eine verstärkte Freisetzung folinpositiver Gruppen. Das Integral über die Biuretkurve zeigt keine charakteristischen Unterschiede nach Enzymzusatz, entsprechend der nicht veränderten Gesamtproteinkonzentration.

F. DISKUSSION

1. Bemerkungen zur Methode

Es handelt sich um eine kontinuierliche und gleichzeitige Registrierung der Konzentration der Biuret- und Folingruppen und des pH-Verlaufes. Diese direkte intragastrale Messung unter standardisierten Bedingungen schließt Fehler durch ungleiche zeitliche Verschiebung der verschiedenen Messungen, durch Berührung mit Luft und durch andere individuelle Manipulationen aus. Dennoch sind Störfaktoren zu berücksichtigen, die vor allem durch die unterschiedliche Zusammensetzung des Magensekretes, aber auch durch die individuell verschiedene Reaktionsweise der Probanden vorgegeben sind.

Im einzelnen sind zu nennen: Qualitativ und quantitativ deutlich unterschiedlicher Protein- und Schleimgehalt des Magensekretes; erhebliche Volumendifferenzen des Magensekretes; nicht seltene, auch ohne Traumatisierung durch die liegende Sonde auftretende leichte Blutungen in das Magenlumen; duodenogastraler Reflux mit entsprechender Beimengung von Gallefarbstoffen und Duodenalsaft zum Mageninhalt; Verlagerung der Kapsel in Bereiche des Magens, die durch Falten teilweise vom Magenlumen abgetrennt wurden und so nicht gleichmäßig durchmischt werden; erhebliche Speichelmenge, die teilweise nach außen abfloß, teils aber auch in den Magen gelangte. Weitere Störmöglichkeiten entstehen durch die individuell verschieden schnelle pH-Einstellung im Chymus, bedingt durch das deutlich unterschiedliche Säure-Sekretionsvermögen der einzelnen Probanden, und durch die variable Elektrolytkonzentration des Chymus. Zudem variiert die Abflußgeschwindigkeit des Chymus ins Duodenum je nach Proband deutlich. Diese Änderung des Volumens des Mageninhaltes wird durch die ausgeführten Bestimmungen nicht erfaßt, denn es werden nur Konzentrationen, nicht absolute Mengen gemessen. Nur wenn man annimmt, daß das Volumen einigermaßen konstant ist, kann man eine Aussage über die eigentlich interessierenden Mengen machen.

Entsprechend den zahlreichen Störfaktoren, aus deren Wirkung sich auch die relativ breite Streuung der Einzelwerte (Abb. 26 und 27) und die Verschiedenheit der Meßkurven (Abb. 3 bis 25) erklären läßt, war es nicht zweckmäßig, die Einzelwerte statistisch auszuwerten. Vielmehr wurde erstrebt, aus der Mittelwertseinstellung, welche sich bei Änderung eines Versuchsfaktors (Enzymzusatz zum Eiweißprobetrunk) ergibt, auf die verschieden aktive Spaltung der Nahrungsproteine, bedingt durch diese Enzymwirkung, zurückzuschließen.

Die Möglichkeit eines solchen direkten Schlusses bestätigten die Ergebnisse der Vorversuche, welche keine Differenz der Extinktion nach Biuret- bzw. Folinreaktion bei gleich konzentrierten Albumin- und AE 1-Lösungen (Albumin mit Pepsinzusatz) ergaben (Abb. 1).

Bei der Erstellung von Eichkurven ergaben sich für die Biuretwerte keine größeren Probleme. Schwieriger war es für die Folinkurven, da es sehr lange dauert, bis hier konstante Werte erreicht sind. Es konnte jedoch durch genügend lange Meßdauer auch eine Folineichkurve als Voraussetzung für die Versuchsauswertung erstellt werden.

Weiterhin wurde der Verdacht, eine vorausgegangene Selbstverdauung der Proteinlösung durch das zugesetzte Pepsin könnte die Aussage des einen Untersuchungsganges beeinflussen, ausgeschlossen.

Nicht zu beeinflussen waren die in den Kurven plötzlich auftretenden Extinktionsspitzen. Diese Spitzen sind bedingt durch kleinste Eiweißkoagel des Chymus, die in der Meßeinheit eine entsprechende kurzzeitige Schwankung verursachen.

Bezüglich der Auswertung erscheint zunächst angreifbar, daß ein starres Zeitschema (5 ; 10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 min) für die Wahl der Zeitpunkte zur Berechnung der Verdaulichkeitsquotienten verwendet wurde. Dieses freie Wählen einer Bezugseinheit war jedoch notwendig, um die Meßkurven vergleichen zu können.

Neben der Berechnung der Verdaulichkeitsquotienten und ihrer Mittelwerte erwies sich ein Vergleich der mittleren absoluten Konzentration an Tyrosin und Tryptophan für die Zeitdauer des ganzen Versuchs und der ersten 20 Minuten als

sinnvoll. Zusätzlich wurde noch eine Integralauswertung der von den Meßkurven eingeschlossenen "Biuret-" und "Folinflächen" vorgenommen und ihre Verhältnisse zueinander ermittelt. Diese Maßnahme hat sich besonders für die Beurteilung der Wirkung des zugesetzten Enzyms als Vorteil erwiesen.

2. Diskussion der Ergebnisse

Betrachtet man zunächst die Kurvenverläufe (Abb. 3 bis 25), so zeigt sich bei allen vier Gruppen trotz quantitativer Unterschiede ein gemeinsames Prinzip: Die Biuretkurven zeigen meist keine großen Veränderungen, während die Folinkurven einen deutlich schwankenden Verlauf aufweisen.

Die Biuretwerte, die im Laufe der Untersuchung kontinuierlich leicht abnehmen, lassen einen allmählichen Verlust von Peptidbindungen erkennen, der jedoch im Verhältnis zur vorhandenen Proteinmenge relativ gering ist. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Fickeis und Berg überein, die bei ihren intragastralen Untersuchungen mit Kasein ebenfalls eine geringe Abnahme der biuretabhängigen Eiweißkonzentration beobachteten (Fickeis, 1971; Berg, 1971). Auch der Enzymzusatz verändert diese Kurvenform nicht.

Im Gegensatz dazu zeigen die Folinkurven nach einem Anfangsgipfel einen steilen, deutlichen Abfall und wieder eine Zunahme, eventuell gefolgt von einem zweiten Abfall. Man darf diese Schwankungen als wiederholte Tyrosin- und Tryptophanfreisetzungen durch Proteolyse und nachfolgende Resorption deuten, die unabhängig von den Biuretwerten auftreten. Die relativ konstanten Biuretkurven schließen Verdünnungs- und Konzentrationseffekte aus. Auch dies bestätigt bereits frühere Untersuchungen und wird durch den Enzymzusatz nicht verändert (Fickeis, 1971; Berg, 1971; Maiwald, 1973). Derartige Änderungen der Biuret- und Folinwerte sind nicht nur im stark sauren Milieu, sondern auch bei schwach sauren und neutralen pH-Werten möglich (siehe Abb. 3 bis 25, pH-Tabelle). Dies bestätigt wiederum frühere Arbeiten (Buchs, 1974; Merten, 1951).

Die aus diesen Folin- und Biuretwerten berechneten Verdaulichkeitsquotienten zeigen dieselben Eigenschaften wie die, die Fend bei seinen Untersuchungen mit lyophilisiertem Kasein erhielt. Auch er findet eine breite Streuung der Einzelwerte, einen Anstieg in den ersten 15 bis 20 Minuten und anschließend eine Konstanz der Mittelwerte der Verdaulichkeitsquotienten (Fend, 1973). Dieser konstante Endwert betrug bei Fend nach Verdauung von Kasein etwa 0,9 , während sich bei der vorliegenden Albuminverdauung Werte um 1,3 ergaben.

Vergleicht man die Mittelwerte der Verdaulichkeitsquotienten, die sich nach Verabreichung von reinem Albumin (Abb. 26) und von Albumin mit Pepsin (Abb. 27) ergeben, so fällt auf, daß die Enzymbeimengung ihre Größenordnung weder deutlich beeinflußt noch charakteristisch in Abhängigkeit von der Zeit verschiebt. Genauso bleibt die Streuung der Einzelwerte unverändert breit, entsprechend dem ständig stark schwankenden Verhältnis der im Chymus nachweisbaren Folin- und Biuretgruppen.

Erst wenn man die pH-Werte berücksichtigt und die Untersuchungsergebnisse unterscheidet in eine Gruppe mit Proteolyse bei pH-Werten unter 3 und in eine Gruppe mit Proteolyse bei pH über 3, so erfährt die Mittelwertseinstellung eine Veränderung: In der Anfangsphase (20 min) bewirkt der Enzymzusatz einen Anstieg der Quotientenmittelwerte. Während der restlichen Versuchsdauer besteht unter der Enzymwirkung eher eine Neigung zur Quotientendepression. Bei stark sauren Bedingungen (Abb. 28 und 30) sind diese Veränderungen deutlich geringer als im schwach sauren Bereich (Abb. 29 und 31), wo sowohl der Quotientenanstieg zu Beginn als auch die Depression in der Endphase ausgeprägt sind. Jedoch ist zur sehr starken Quotientendepression im zweiten Zeitabschnitt bei pH-Werten > 3 kritisch zu bemerken, daß dieser Kurvenverlauf nur aus relativ wenigen Werten ermittelt wurde, da nach etwa 20 Minuten bei den meisten Probanden bereits wieder auf pH-Werte < 3 angesäuert worden war.

Der Anstieg des Quotienten läßt sich als eine Vermehrung der Tyrosin- und Tryptophangruppen im Verhältnis zu den vorhandenen biuretpositiven Eiweißbindungen und somit als gestei-

gerten Proteinabbau interpretieren, der vor allem in der Anfangsphase der Verdauung durch Enzymzusatz bewirkt wird. Auch ergibt sich dadurch, daß die Enzymsubstitution im geringer sauren Magenmilieu die Proteolyse stärker beschleunigt.

Die angedeutete Quotientendepression der zweiten Phase bei Pepsinzusatz darf wahrscheinlich als eine bevorzugte Resorption von freigesetzten Tyrosin- und Tryptophanresten interpretiert werden, da eine verlangsamte Freisetzung dieser Aminosäuren keine Wirkung des Pepsins sein dürfte, oder eventuell auch als eine zunehmende Spaltung der Peptidbindungen.

Vergleicht man die absolute Konzentration von Tyrosin und Tryptophan während der anfänglichen 20 Minuten und während des gesamten Versuchsablaufes, so wird deutlich, daß der Pepsinzusatz in den allermeisten Untersuchungen in beiden Zeiträumen zu einem Anstieg der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration führt. Übereinstimmende Ergebnisse fand Maiwald durch Verabreichung von 3,5 %iger Kaseinlösung unter Beigabe eines Pepsinglycinhydrochlorid-Präparates und anschließender intragastraler Analyse (Maiwald, 1973). Die erhöhte Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration nach AE 1-Gabe kann nur durch eine vermehrte Freisetzung dieser Aminosäuren aus dem Probetrunk erklärt werden, da bereits in den Vorversuchen identische Extinktionen für gleichkonzentrierte Albumin- und AE 1-Lösungen nachgewiesen wurden.

Durch die Tatsache, daß das Verhältnis X_1 (Abb. 34) in den meisten Versuchen nach AE 1-Gabe höher ist als nach reiner Albumingabe, läßt sich auch eine relative Vermehrung des Tyrosin und Tryptophan zu Anfang im Vergleich zum Gesamtprotein erkennen. Die Relation X_2 dagegen, die für die gesamte Untersuchungsdauer gilt, zeigt keine Vergrößerung nach AE 1-Verabreichung. Eventuell wird das Verhältnis gegen Ende des Versuches durch bevorzugte Resorption der folinpositiven Gruppen zu deren Ungunsten verschoben.

Die Beschleunigung der Proteolyse durch Enzymzusatz erfolgt demnach in den ersten 20 Minuten besonders deutlich, während sie gegen Ende der Untersuchung kaum noch nachweisbar ist. Die beschleunigende Wirkung des Enzymzusatzes fällt damit in die Phase, in der früheren Untersuchungen zufolge die wichtigsten

proteolytischen Umsetzungen stattfinden (Fend, 1973; Maiwald, 1973).

Geht man schließlich auf die Flächenberechnung durch Integration aus den 10 letzten Versuchen ein, so können die Flächenzunahme unter der Folinkurve nach AE 1-Gabe und die Flächenkonstanz unter der Biuretkurve übereinstimmend mit den vorhergehenden Ergebnissen als eine relative Zunahme der Tyrosin- und Tryptophan-Konzentration interpretiert werden. Diese Art der Auswertung bestätigt demzufolge bei 9 von 10 Untersuchungen die proteolysebeschleunigende Wirkung des Enzymzusatzes. Weiterhin kommt dadurch zum Ausdruck, daß die Verwendung des Flächenquotienten eine bessere und für die Vergleichsbewertung brauchbare Möglichkeit darstellt, wenn die Einwirkung des Enzyms auf die Eiweißspaltung beurteilt werden soll.

3. Weiterführende Gesichtspunkte

Das weiterführende Ergebnis der vorliegenden Arbeit mit ihrer Methode der kontinuierlichen intragastralen Registrierung ist eine Bestätigung der folgenden Tatsachen:

Die Eiweißspaltung im Magen besteht nicht einfach in einer vorgezogenen unkoordinierten Proteolyse; vielmehr beweist das Resultat, daß vor allem zu Anfang der Proteolyse eine Verschiebung der quantitativ chemisch faßbaren Produkte zugunsten der folinpositiven Gruppen erfolgt. Die Konzentration von tyrosin- und tryptophanhaltigen Spaltprodukten läßt sich durch Pepsinzusatz vermehren. Für eine genauere chemische Analyse und Identifizierung der gebildeten Proteolyseprodukte böten sich elektrophoretische oder chromatographische Trennverfahren mit anschließender Sequenzanalyse an. Im Laufe der Beobachtungszeit jedoch kommt es zu einer Senkung der relativen Konzentration an folinpositiven Gruppen als Ausdruck einer noch nicht erklärten Veränderung der Zusammensetzung des Chymus, auf deren Ursache mit der Methode dieser Arbeit nicht eingegangen werden kann. Möglicherweise werden erst gegen Ende der

Untersuchung in feststellbarem Ausmaß Peptidbindungen gespalten und infolgedessen die Biuretwerte reduziert. Als Ursache kommt weiterhin eine qualitativ und quantitativ verschiedene Proteinsekretion des Magens in Betracht (Maiwald, 1973). Eventuell spielen aber die bereits erwähnten Resorptionsvorgänge, die aromatische Aminosäuren enthaltende Spaltprodukte deutlich bevorzugen, die wichtigste Rolle. Anhaltspunkte dafür ergaben bereits ältere Untersuchungen von Henning und Fickeis (Henning, 1949; Fickeis, 1971; Maiwald, 1973).

G. ALLGEMEINE ZUSAMMENFASSUNG

In einer Untersuchung an 36 freiwilligen Probanden wurde geprüft, in welcher Weise der Zusatz von Pepsin zu einem Albuminprobetrunk die intragastrale Proteolyse im Vergleich zu einem reinen Albuminprobetrunk nachweisbar verändert. Hierzu wurden in einer Gruppenuntersuchung mit Doppellaufsonde und Autoanalyser die entstehenden Proteolyseprodukte verglichen.

Der Pepsinzusatz bewirkte in der Anfangsphase der gastralen Proteolyse einen stärkeren Anstieg der mit der Folinmethode bestimmten Tyrosin- und Tryptophankonzentration. Dies konnte besonders durch die Integration der Folinkurven gezeigt werden, was sich somit als gute Methode für den Nachweis der Wirksamkeit des zugesetzten Enzyms erwies.

Die Zweckmäßigkeit und der Aussagewert des Untersuchungsverfahrens wurden besprochen und mit den Ergebnissen anderer Arbeiten verglichen.

H. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

Andersson, S., Elwin, C.E.
Relationship between antral acidity and gastrin releasing potency of chemical stimulants.
Acta Physiol. Scand. 83(1971) 437-445

Anson, M.L., Mirsky, A.
Estimation of pepsin with hemoglobin.
J. Gen. Physiol. 16 (1932) 59-63

Alvarez, W.C., Vanzant, F.R., Osterberg, A.E.
Daily variations in the concentrations of acid and pepsin in the gastric juice of three persons observed for two months.
Americ. J. of Digestive Diseases 3(1936) 162-164

Berg, W.
Gleichzeitige Erfassung von Proteolyse und pH-Änderung im Chymus mit Hilfe des Autoanalysators und der Endoradiosonde während intragastraler Verdauung.
Inaugural-Dissertation der Medizinischen Fakultät Würzburg 1971

Bickel, A.
Über den Einfluß von Eiweißabbauprodukten auf die Magensaftsekretion.
Archiv für Verdauungskrankheiten 46 (1929) 70-80

Bockus, H.L.
Gastroenterology, Vol. 1: Oesophagus and Stomach.
W.B.Saunders Co., Philadelphia, London 1949

Borgström, B., Dahlquist, A., Lundh, G., Sjövall, J.
Studies of intestinal digestion and absorption in the human.
J. Clin. Invest. 36 (1957) 1521-1536

Bramstedt, F.
Die Bedeutung der katheptischen Fermente für die proteolytische Verdauung im Tierreich.
Verh. dtsch. Zool., Mainz 1949, 173-182

Bramstedt, F.
Neue Untersuchungen zur proteolytischen Leistung des Magensaftes.
Dtsch. Archiv f. klin. Med. 197 (1950) 537-542

Buchs, S., Freudenberg, E.
Die Rolle des Kathepsins bei der Eiweißverdauung.
Ergebn. d. Inn. Med. u. Kinderheilk. N.F. 2.Band (1951) 544-562

Buchs, S. — Die proteolytischen Fermente des Magens. Ergebn. d. Inn. Med. u. Kinderheilk., Hg.: L.Heilmeyer, A.-F.Müller, A.Prader, R.Schoen, N.F. Band 30 (1970) 159-233 Springer-Verlag, Berlin

Buchs, S. — Zur Problematik der Säure- und Fermentsubstitution bei Magenleiden. Dtsch.Med.Wschr. 96 (1971) 1925-1929

Buchs, S. — Die neuen Pepsine bei Mensch und Tier. Ärztl. Forschung 26 (1972) 1-16

Buchs, S. — Das ungelöste Problem der Eiweißspaltung im Magen. Dtsch.Med.Wschr. 98 (1973) 1372-1376

Buchs, S. — Wozu sezerniert die Magenschleimhaut Pepsine und Salzsäure? Dtsch.Med.Wschr. 99 (1974) 332-338

Buchs, S. — Zum Wirkungsmechanismus der Pepsine im Magen. Das Med. Laboratorium 27 (1974) 235-241

Christensen, L.K. — Concerning the pH optimum of peptic hydrolysis. Arch.Biochem.Biophys. 57 (1955) 163-173

Cooke, A.R. — Control of gastric emptying and motility. Gastroenterology 68 (1975) 804-816

Cooke, A.R., Turtle, J.R. — Serum gastrins in response to various stimuli. Clin. Res. 18 (1970) 679

Davenport, H.W. — Physiologie der Verdauung; eine Einführung. F.H.Schattauer, Stuttgart - New York (1971)

Demling, L. — Der kranke Magen. Urban und Schwarzenberg, München - Berlin - Wien (1970)

Etherington, D.J., Taylor, W.H. — The pepsins from human gastric mucosal extracts. Biochem. J. 118 (1970) 587-594

Felix, K. — Über den Aufbau des Histons der Thymusdrüse. Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 146 (1925) 103-121

Folin, O., Ciocalteu, V. — On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. J.Biol.Chem. 73 (1927) 627-650

Freudenberg, E. — Über das Kathepsin des Magensaftes. Enzymologia 8 (6) (1940) 385-391

Fend, N. — Bestimmung eines Verdaulichkeitsquotienten mit Hilfe der gleichzeitigen intragastralen Proteolysemessung. Inaugural-Dissertation der Medizinischen Fakultät Würzburg (1973)

Gillespie, I.E. — Influence of antral pH on gastric acid secretion in man. Gastroenterology 37 (1959) 164-168

Goldberg, D.M. — Functional, chemical, and clinical aspects of proteolytic enzymes in the alimentary canal. Clin. Biochem. 9 (1976) 131-135

Griffith, G.H., Owen, G.M., Kirkman, S., Shields, R. — Measurement of rate of gastric emptying using chromium 51. Lancet 1966/I 1244-1245

Grossman, M.I. — Some aspects of gastric secretion. Gastroenterology 52 (1967) 882-892

Grossman, M.I. — The physiology of gastric secretion. Universitets Forlaget, Oslo(1968)

Heider, H., Rausch, F. — Der Einfluß eines Aminosäurengemisches auf die Magen- und die Pankreassekretion. Arzneimittel-Forsch. 18 (1968) 877-880

Henning, N. — Lehrbuch der Verdauungskrankheiten. Thieme Stuttgart (1949)

Henning, N., Kinzlmeier, H., Kimbel, K.H. — Die H-Ionenkonzentration im Magen während der Verdauung. Gastroenterologia 81 (1954) 284-292

Herriott, R.M. — Isolation, crystallization and properties of pepsin inhibitor. J. Gen. Physiol. 24 (1941) 325-338

Herriott, R.M. — Reactions of Folin's reagent with proteins and Biuret compounds in presence of cupric ions. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 46 (1941) 642-644

Hinder, R.A., Horn, B.K.P., Bremner, C.G. — The volumetric measurement of gastric emptying and gastric secretion by a radioisotope method. Amer. J. of Digestive Diseases 21 (1971) 940-945

Huang, W.Y., Tang, J.
On the specifity of human gastricsin and pepsin.
J. Biol. Chem. 244 (1969) 1085-1091

Hunt, J.N., Spurrell, W.R.
The pattern of emptying of the human stomach.
J.Physiol.(London) 113 (1951) 157-168

Ivy, A.C., Javois, A.J.
Contributions to the physiology of gastric secretion. IV. The stimulation of gastric secretion by hydrolyzed proteins.
Americ. J. Physiol. 71 (1925) 583-591

Ingram, W.M.
Autolysis products of pepsin.
Nature 167 (1951) 83

Kageyama, T., Takahashi, K.
Pepsinogens and pepsins from gastric mucosa of Japanese monkey.
J. Biochem. 79 (1976) 455-468

Kageyama, T., Takahashi, K.
Pepsinogen C and pepsin C from gastric mucosa of Japanese monkey.
J. Biochem. 80 (1976) 983-992

Konturek, S.J.
Gastric secretion
in: Gastrointestinal Physiology, Series 1, Vol. 4, Editor: A.C.Guyton, E.D. Jacobson, L.L.Shanbour; Butterworths University Park Press London - Baltimore (1974) 227-264

Krentz, K.
Beziehungen zwischen HCl- und Fermentproduktion im Magen.
Die Med. Welt[14](1963) 1355 - 1356

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J.
Protein measurement with the Folin phenol reagent.
J. Biol. Chem. 193 (1951) 265-275

Magee, D.F.
Pepsin.
Medical Clinics of North America 58 (1974) 1277-1287

Maiwald, L., Strik, W.O., Bramstedt, F.
Die Anwendungsmöglichkeiten der Heidelberger Kapsel in Kombination mit einer Schlauchsonde.
Med. Welt 18 (N.F.) (1967) 799-802

Maiwald, L.
Erweiterte Verfahren der Magenfunktionsdiagnostik
in: Gastroenterologie und Stoffwechsel. Thieme Stuttgart (1973)

Melzer, H., Weber, D., Wotzka, R.
Experimentelle Stimulation der Magensekretion durch Aminosäuren. Arzneimittel-Forsch. (Drug Res.) 21 (1971) 107-110

Merten, R., Ratzer, H.
Zur Charakterisierung des Magen- und Harnkathepsins des Erwachsenen. Klin. Wochenschr. 27 (1949) 587-588

Merten, R.
Untersuchungen über das Magenkathepsin. Gastroenterologia 76, Fasc. 2 (1950/51) 63-77

Merten, R.
Untersuchungen über das Magenkathepsin. Gastroenterologia 77, Fasc. 3 (1951) 33-47

Merten, R., Ratzer, H.
Zur Bestimmung proteolytischer Fermente im menschlichen und tierischen Organismus, zugleich eine Methode zur Erfassung des Kathepsins und Pepsins im Magen und Harn sowie des Trypsins im Duodenum. Dtsch. Z. f. Verdauungs- u. Stoffwechselkrankheiten 10 (1950) 87-96

Nöller, H.G.
Die Endoradiosonde zur elektrischen pH-Messung im Magen und ihre klinische Bedeutung. Dtsch. Med. Wschr. 85 (1960) 1707-1713

Nordgren, B.
The rate of secretion and electrolyte content of normal gastric juice. Acta Physiol. Scand. 58, Suppl. 202 (1963) 3-83

Northrop, J.H.
The mechanism of the influence of acids and alkalies on the digestion of proteins by pepsin or trypsin. J. Gen. Physiol. 5 (1922) 263-274

Northrop, J.H.
Crystalline pepsin: I. Isolation and tests of purity. J. Gen. Physiol. 13 (1930) 739-766

Osterberg, A.E., Vanzant, F.R., Alvarez, W.C., Rivers, A.B.
Studies of pepsin in human gastric juice. Americ. J. of Digestive Diseases and Nutriation 3 (1936) 35-41

Ottenjann, R.
Die Physiologie der Magensekretion und ihre klinische Bedeutung. Münchner Med. Wschr. 109 (1967) II 2063-2067

Piper, D.W., Fenton, B.H. — The adsorption of pepsin. Americ. J. of Digestive Diseases N.S. 6 (1961) 134-141

Piper, D.W., Griffith, E.M., Fenton, B.H., Beeston, D. — Protein content of gastric juice. Gut 6 (1965) 599-601

Piper, D.W., Fenton, B.H. — pH stability and activity curves of pepsin with special reference to their clinical importance. Gut 6 (1965) 506-508

Rapp, W., Lehmann, H.E. — Isolierung von Komponenten menschlicher Magenschleimhaut-Pepsinogene und Cathepsine mit präparativer Polyacrylamid-elektrophorese zur Herstellung spezifischer Immunseren. J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 14(1976)569-575

Samloff, I.M. — Slow moving protease and the seven pepsinogens. Gastroenterology 57 (1969) 659-668

Samloff, I.M., Liebman, W.M. — Cellular localization of the group II pepsinogens in human stomach and duodenum by immunofluorescence. Gastroenterology 65 (1973) 36-42

Seijffers, M.J., Segal, H.L., Miller, L.L. — (a) Separation of pepsinogen I, pepsinogen II, and pepsinogen III from human gastric mucosa. Americ.J.Physiol. 205 (1963) 1106-1112

Seijffers, M.J., Segal, H.L., Miller, L.L. — (b) Separation of pepsin I, pepsin II A, pepsin II B, and pepsin III from human gastric mucosa. Americ.J.Physiol. 205 (1963) 1099-1105

Seijffers, M.J., Turner, M.D., Miller, L.L., Segal, H.L. — Human pepsinogens and pepsins. Gastroenterology 48 (1965) 122-124

Springer, G.F. — Zur Frage der Wirkung des Kathepsins und Pepsins des menschlichen Magensaftes auf feste Substrate. Biochem. Zeitschr. 321 (1950) 107-141

Tang, J., Wolf, S., Caputto, R., Trucco, R.E. — Isolation and crystallization of gastricsin from human gastric juice. J. Biol. Chem. 234 (1959) 1174-1178

Tang, J., Wolf, S. — Proteolytic enzymes of the gastric juice. Progress in Gastroenterology 1 (1968) 186-194

Tang, J., Wolf, S. — The identification and properties of proteolytic enzymes in human gastric juice in: Modern Gastroenterology, Ed. O. Gregor, O.Riedl, Schattauer-Verlag Stuttgart (1969) 81-82

Turner, M.D., Mangla, J.C., Samloff, J.M., Miller, L.L., Segal, H.L. — Studies on the heterogeneity of human gastric zymogens. Biochem. J. 116 (1970) 397-404

Wade, A.J. — Pepsin exposes stimulant aminoacids. The Lancet 17 (1976) 859-860

Whitecross, D.P., Armstrong, C., Clarke, A.D., Piper, D.W. — The pepsinogens of human gastric mucosa. Gut 14 (1973) 850-855

Wright, L.F., Hirschowitz, B.I. — Gastric acid secretion. Americ. J. of Digestive Diseases 21 (1976) 409-418

Herrn Professor Dr. L. Maiwald möchte ich an dieser Stelle sehr herzlich danken für die Überlassung des Themas, die Übernahme des Referates und für die ständige Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit.

Herrn Professor Dr. K. Kochsiek danke ich sehr für die Übernahme des Korreferates.

Mein Dank gilt auch allen Probanden, die sich freundlicherweise für die Versuche zur Verfügung stellten.

L E B E N S L A U F

Am 5. April 1951 wurde ich als Tochter des Bauern Johann Friedrich Hellenschmidt und seiner Ehefrau Johanna Mina, geb. Pfeiffer, in Schweinsdorf bei Rothenburg ob der Tauber geboren. Von September 1957 bis Juli 1961 besuchte ich die Volksschule in Schweinsdorf, anschließend das mathematisch-naturwissenschaftliche Reichsstadt-Gymnasium Rothenburg ob der Tauber, wo ich im Juni 1970 die Reifeprüfung ablegte.

Vom Wintersemester 1970/71 an studierte ich Chemie und Biologie an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg. Im Juni 1975 bestand ich das erste Staatsexamen für das Lehramt an Höheren Schulen.

Seit dem Sommersemester 1975 studierte ich an der Universität Würzburg Humanmedizin. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich am 27. August 1976, den ersten Abschnitt der ärztlichen Prüfung am 26. August 1977, den zweiten Abschnitt am 21. August 1979 und den dritten Abschnitt am 4. November 1980.

Am 15. September 1978 heiratete ich Dr.med. Roland Wilhelm Georg Moll.

Würzburg, den 17. Dezember 1980

Ingrid Moll